P 947
KA

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

13P
3099.
Institut de Documentare Tehnică
BUCUREȘTI
OBMEH - CHRE
VYMENA - WYMIANA
TAUSCH - ОБМЕНА

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE

1-2

ANUL IV

IANUARIE-IUNIE 1956

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE

1-2

ANUL IV

IANUARIE-IUNIE 1956

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITET DE REDACȚIE

Academician C. D. NENIȚESCU, redactor responsabil; Academician R. RIPAN; Academician R. CERNĂTESCU; Academician I. TĂNĂSESCU; Academician E. MACOVSCHI; E. ANGELESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; C. N. IONESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; C. DRĂGULESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R., E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE

Tomul IV, nr. 1—2 Ianuarie—iunie 1956

SUMAR

Pag.

R. RIPAN, GH. MARCU şi N. PASCU, Găsirea produselor bogate în telur din industria neferoasă şi recuperarea telurului 7

COSTIN D. NENIŢESCU, MARGARETA AVRAM şi ELVIRA ŞLIAM, Despre reducerea 5-nitro-uracilului cu ditionit de sodiu..... 15

I. TĂNĂSESCU, I. GANEA, F. HODOŞAN şi M. TERDIC, Despre steroide VII. Esteri nitrici în clasa acizilor biliari 21

EUGEN MACOVSCHI şi LILICA BOTOŞĂNEANU, Acţiunea lecitinei asupra pătrunderii novocainei prin membrana lichidă apă-alcool *izo*-amilic 31

C. V. GHEORGHIU, LEONIA STOICESCU-CRIVETZ şi LAURA MĂNDĂŞESCU, Acţiunea antituberculoasă a acizilor *p*-amino-*o*-halogenobenzhidroxamici 39

C. V. GHEORGHIU, C. H. BUDEANU, ELENA BUDEANU şi A. TOMA, Acţiunea antituberculoasă a unor tiourei noi, derivate din sulfamide (V) şi acizi aminici aromatici (II) 47

COSTIN D. NENIŢESCU şi MARGARETA AVRAM, Sinteza amfi-fluorochinonei 57

COSTIN D. NENIŢESCU şi ŞERBAN ŢIŢEICA, Despre o relaţie între punctele de topire şi numărul de atomi de carbon în seria parafinelor normale superioare 65

MARIA IONESCU şi MARCELA FĂRCĂŞAN, Acţiunea alcoolaţilor asupra nitroderivaţilor aromatici halogenaţi (I) (Acţiunea hidroxizilor alcalini metilalcoolici şi a metilatului de sodiu asupra *p*-nitro-clorbenzenului) 69

SEVER PETRAŞCU şi MARGARETA MIHUŢESCU, Sinteza şi studiul fizico-chimic al unor compuşi anion-activi 79

SEVER PETRAŞCU şi ELVIRA GROU, O metodă colorimetrică pentru determinarea dinitro-fenolilor..... 93

D. GR. CONSTANTINESCU şi V. EM. CALCANDI, O nouă metodă de dozare fotometrică a flavonolilor şi 3-glicozizilor lor 99

I. MINŢER şi F. GHERGHEL, Prepararea unor ω-hidroxi-acetofenone printr-o reacţie de hidroxi-acetilare a fenolilor cu glicolo-nitril 111

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE CHIMIE

Tome IV, n° 1—2 Janvier—juin 1956

SOMMAIRE

Page

R. RIPAN, GH. MARCU et N. PASCU, Découverte de produits riches en tellure de l'industrie des métaux non ferreux et récupération du tellure 7

COSTIN D. NENIȚESCU, MARGARETA AVRAM et ELVIRA ȘLIAM, La réduction du 5-nitro-uracile par le dithionite de sodium 15

I. TĂNĂSESCU, I. GANEA, F. HODOȘAN et M. TERDIC, Sur les stéroïdes. VII. Esters nitriques de la classe des acides biliaires 21

EUGEN MACOVSCHI et LILICA BOTOȘĂNEANU, Influence de la lécithine sur la pénétration de la novocaïne à travers la membrane liquide eau-alcool *iso*-amylique 31

C. V. GHEORGHIU, LEONIA STOICESCU-CRIVETZ et LAURA MĂNDĂȘESCU, L'action antituberculeuse des acides *p*-amino-*o*-halogénobenzhydroxamiques 39

C. V. GHEORGHIU, C. H. BUDEANU, ELENA BUDEANU et A. TOMA, Action antituberculeuse de quelques thio-urées nouvelles, dérivées des sulfamides (V) et des acides aminiques aromatiques (II) 47

COSTIN D. NENIȚESCU et MARGARETA AVRAM, Synthèse de l'amphi-fluoroquinone 57

COSTIN D. NENIȚESCU et ȘERBAN ȚIȚEICA, D'une relation entre le point de fusion et le nombre d'atomes de carbone dans la série des paraffines normales supérieures 65

MARIA IONESCU et MARCELA FĂRCĂȘAN, L'action des alcoolates sur les nitrodérivés aromatiques halogénés (I) (Action des hydroxydes alcalins méthylalcooliques et du méthylate de sodium sur le *p*-nitrochlorobenzène) 69

SEVER PETRAȘCU et MARGARETA MIHUȚESCU, Synthèse et étude physico-chimique de certains composés tensio-actifs anioniques 79

SEVER PETRAȘCU et ELVIRA GROU, Une méthode colorimétrique pour la détermination des dinitrophénols 93

D. GR. CONSTANTINESCU et V. EM. CALCANDI, Une nouvelle méthode de dosage photométrique des flavonols et de leurs 3-glycosides 99

I. MINȚER et F. GHERGHEL, Préparation de quelques ω-hydroxy-acétophénones au moyen d'une réaction d'hydroxy-acétylation des phénols au glycolonitrile 111

ÈDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ХИМИИ

Том. IV, № 1—2 Январь—июнь 1956

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Р. РИПАН, Г. МАРКУ и Н. ПАСКУ, Получение в цветной металлургии богатых теллуром продуктов и рекуперация теллура 7

К. Д. НЕНИЦЕСКУ, М. АВРАМ и Э. ШЛИАМ, О восстановлении натриевым дитионитом 5-нитроурацила 15

И. ТЭНЭСЕСКУ, И. ГАНЯ, Ф. ХОДОШАН и М. ТЕРДИК, О стероидах VII. Азотные эфиры в классе желчных кислот 21

Е. МАКОВСКИЙ и Л. БОТОШЭНЯНУ, Влияние лецитина на проникновение новокаина через образующуюся между водой и изоамиловым спиртом жидкую пленку 31

К. В. ГЕОРГИУ, Л. СТОИЧЕСКУ-КРИВЕЦ и Л. МЭНДЭШЕСКУ, Противотуберкулезное действие *p*-амино-*o*-галоидбензгидроксаминокислот 39

К. В. ГЕОРГИУ, К. Х. БУДЯНУ, Е. БУДЯНУ и А. ТОМА, Противотуберкулезное действие некоторых новых тиомочевин, производных сульфамидов (V) и аминовых ароматических кислот (II) 47

К. Д. НЕНИЦЕСКУ и М. АВРАМ, Синтез амфифлуорохинона 57

К. Д. НЕНИЦЕСКУ и Ш. ЦИЦЕЙКА, О связи между точками плавления и числом атомов углерода в ряде высших нормальных парафинов 65

М. ИОНЕСКУ и М. ФЭРКЭШАН, Действие алкоголятов на галоидные ароматические нитропроизводные. I. Действие метилспиртовых щелочных гидроокисей и метилата натрия на *p*-нитрохлорбензол 69

С. ПЕТРАШКУ и М. МИХУЦЕСКУ, Синтез и физико-химическое исследование некоторых соединений с активными анионами 79

С. ПЕТРАШКУ и Э. ГРОУ, Колориметрический метод для определения динитрофенолов 93

Д. Г. КОНСТАНТИНЕСКУ и В. Э. КАЛКАНДИ, Новый метод фотометрического определения флавонолов 99

И. МИНЦЕР и Ф. ГЕРГЕЛЬ, Получение некоторых ω-гидроксиацетофенонов посредством реакции гидроксиацетилирования фенолов гликолонитрилом 111

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

GĂSIREA PRODUSELOR BOGATE ÎN TELUR DIN INDUSTRIA NEFEROASĂ ŞI RECUPERAREA TELURULUI

DE

ACADEMICIAN R. RIPAN, GH. MARCU şi N. PASCU

Problema valorificării tuturor bogăţiilor de care dispune ţara noastră, ne-a determinat să ne ocupăm de posibilitatea de a concentra şi izola elementul telur la noi în ţară. Aceasta este justificată de variabilele întrebuinţări ce i-au fost găsite.

Deşi descoperit pentru prima dată la noi în ţară de către J. Müller în 1782 şi cu toate că la noi apare sub cele mai variate minereuri complexe asociat cu aur, argint şi plumb în telururi, în care uneori atinge concentraţii pînă la 65 % în telur metalic, totuşi pînă în prezent la noi nu s-a pus problema preparării pe cale industrială a acestui element. Aceasta se datoreşte faptului că minereurile de telur apar foarte puţin răspîndite, însoţind mai ales Au şi Ag într-o rocă cuarţoasă sau andezitică, iar sub formă de filoane apar destul de rar şi atunci dacă ajung la 1—2 cm. Din cauza acestei slabe concentrări a minereurilor de telur, mineritul aurifer nu pune nici un preţ pe extracţia telurului. Dar cu toată această slabă concentrare a telurului, cert este faptul că el apare frecvent sub formă de telururi într-o serie de puncte ca: Săcărîmb, Baia de Arieş, Hărţăgani şi altele. De aici rezultă, că o concentrare exclusiv a telurului nu s-a putut face nefiind rentabilă şi ca atare acest element, deşi deosebit de interesant prin proprietăţile sale fizice şi chimice este lăsat să se piardă în diferitele faze ale prelucrării elementelor pe care acesta le însoţeşte. Pornind de la aceste date se pune următoarea problemă: dacă telurul nu poate fi scos în cantităţi mari numai prin directa prelucrare a minereurilor de telur în urma exploatării unor filoane rentabile şi dacă apariţia minereurilor de telur este destul de slabă ele fiind foarte dispersate în gangă, atunci care este soarta lui ca însoţitor al Pb, Au, Ag şi celelalte neferoase în procesul de concentrare şi elaborare al acestora? Ca răspuns la această problemă s-a urmărit îndeaproape lungul drum pe care este nevoit să-l parcurgă Te alături de celelalte elemente de la concentrare şi pînă la elaborarea în stare metalică spre a se determina locul pînă unde apare şi dacă nu cumva în mod gratuit, pe contul celorlalte elemente, s-ar putea realiza o concentrare mai mare în telur.

Din analiza produselor ce se obțin în diferitele faze la metalurgia neferoaselor s-a constatat prezența Te în produsele A_1, A_2 și A_3. Analiza s-a făcut după metodele clasice în care după dezagregarea cu HNO_3 conc. și îndepărtarea Pb ca $PbSO_4$ s-a precipitat Te ca Te metalic cu SO_2 [1] și [2], în mediu de HCl 12 %, sau s-a trecut Te ca sulfosare în mediu alcalin cu Na_2S, cînd s-au scos prin precipitare metalele grele, după care Te s-a precipitat tot ca Te metalic, prin fierbere cu Na_2SO_3 [3] și [4]. Rezultatele obținute pentru diferitele porțiuni din fiecare produs sînt date în tablourile nr. 1 și 2.

Tabloul nr. 1

Concentrarea telurului în produsul A_1

Grame produs	Te găsit	Te (g) calculat pe tonă	Te (g) media pe tonă
25	0,0030	120	
25	0,0031	124	
25	0,0027	108	
25	0,0034	136	125,42
25	0,0038	152	
25	0,0034	136	
25	0,0028	112	

Tabloul nr. 2

Concentrarea telurului în produsul A_2

Grame produs	Te găsit	Te (g) calculat pe tonă	Te (g) media pe tonă
25	0,0278	1 112	
25	0,0288	1 152	
25	0,0283	1 132	
50	0,0554	1 108	1 130
50	0,0560	1 120	
50	0,0576	1 152	
100	0,1138	1 138	

În produsul A_3, Te nu a putut fi dozat deoarece în probele lucrate atît pe 25 g cît și pe 50 g produs A_3 nu a putut fi identificat decît în urme inponderabile pentru metodele folosite.

Din tablourile nr. 1 și 2 se poate constata că telurul se concentrează în produsele A_2, mai puțin în produsele A_1 și dispare în produsele A_3. În literatură nu s-a găsit nici o indicație cu privire la concentrarea Te în aceste produse în țara noastră.

Prezența telurului în produsele A_1, A_2 și A_3 arată că acest element se concentrează pe seama neferoaselor și în special a Pb, Au, Ag, concentrarea cea mai mare făcîndu-se în produsul A_2, care sînt principalele produse de concentrare a Te. Valorile obținute pentru Te în produsele analizate sînt destul de mici. Aceasta se datorește faptului că la metalurgia neferoaselor, la noi în țară, se prelucrează împreună concentratele din punctele miniere în care apare Te alături de toate celelalte concentrate neferoase, fără urme de Te. În acest fel telurul se concentrează în produsele amintite, dar în același timp acestea se diluează la amestecarea lor cu produse sărace sau lipsite de telur. De aceea este necesar pentru a se putea obține produse A_2 bogate în telur de a se prelucra separat concentratele din regiunile telurifere de celelalte concentrate neferoase din țară.

Mai departe s-a trecut la studierea produselor B_1 și B_2 care se obțin ca o consecință a prelucrării mai departe a produselor A_1, A_2 și A_3.

Determinarea telurului în aceste produse s-a făcut prin aceleași metode ca la produsele tip A, precum și prin metoda propusă mai departe și anume: dezagregarea cu acid acetic, reluarea precipitatului cu HCl 12 % fierbinte și reducerea Te la Te metalic cu SO_2. Concentrarea Te în aceste produse este dată în tablourile nr. 3 și 4.

Rezultă că Te se concentrează în produsele B_2 în care apare sub formă de TeO_2. Ne-am fi așteptat ca, concentrația în Te să crească în produsele

B_2, care fiind produsul de prelucrare a mai multor serii de produse tip A, ar trebui să concentreze și mai mult Te. In realitate, concentrațiile în telur în produsul B_2 scade față de A_2 și de la 1 130g Te/tonă ajung la 612g Te/tonă. Fără îndoială că o mică parte din Te se pierde prin volatilizarea TeO_2, dar factorul care contribuie cel mai mult la scăderea concentrației în Te este că în operația de obținere a produselor tip B se prelucrează împreună atît produsele bogate în Te cît și cele sărace sau lipsite în Te. Rezultă de

Tabloul nr. 3

Concentrarea telurului în produsul B_1

Grame produs	Te găsit	Te (g) calculat pe tonă	Te (g) media pe tonă
25	0,0056	224	
25	0,0059	236	
25	0,0055	220	
25	0,0053	212	222
25	0,0048	192	
25	0,0059	236	
25	0,0057	228	

Tabloul nr. 4

Concentrarea telurului în produsul B_2

Grame produs	Te găsit	Te (g) calculat pe tonă	Te (g) media pe tonă
25	0,0150	600	
25	0,0156	624	
25	0,0152	608	
50	0,0306	612	612,28
50	0,0309	612	
50	0,0305	610	
150	0,0922	614	

aici necesitatea de a se prelucra separat produsele bogate în Te spre a se putea ajunge la o concentrare maximă de Te în produsele amintite.

Concentrarea Te în produsele de tip B este de o mare valoare practică, deoarece acestea, spre deosebire de produsele tip A care conțin și cantități mari de Au și Ag sînt extrem de sărace în aceste elemente care ar ridica probleme grele de prelucrare în prezența lor. În afară de aceasta produsele tip B sînt mult mai ușor de prelucrat, mai ales pe cale chimică, în soluție, cu reactivi ușor de manipulat și de recuperat, lucru aproape irealizabil pentru produsele tip A.

Privind întreg drumul pe care-l urmează telurul la metalurgia neferoaselor, putem afirma că el se concentrează în produsele A_2 și în produsele B_2 ca urmare a prelucrării mai departe a primelor produse. Față de cantitățile în care apare el în concentratele inițiale de neferoase 0,01 % [5], cu tot raportul scăzut ce există în prezent între concentratele cu telur și cele lipsite de telur, el totuși reușește să se concentreze în produsele amintite de 10 ori mai mult, adică 0,1 %. Rezultă că o prelucrare rațională a materiilor prime ar putea duce la o producție apreciabilă de telur.

În cadrul acestei lucrări s-a căutat să se studieze și posibilitatea izolării elementului. Deoarece produsele B_2 se pretează mai bine la prelucrare, s-a realizat un procedeu pe cale umedă în care s-a ținut seama de posibilitatea recuperării tuturor elementelor din produs, precum și de reactivul folosit la prelucrare. În literatură sînt descrise un mare număr de metode de prelucrare a produselor de acest gen. Dintre toate procedeele industriale s-a căutat să se stabilească care dintre ele poate fi aplicat în prezență de TeO_2 ținînd seama în același timp și de posibilitatea recuperării solventului folosit. Astfel s-a stabilit că procedeul de dezagregare cu acid acetic poate fi aplicat cu succes la prelucrarea produsului tip B. El are marele avantaj de a trece componentele produsului B_2 în soluție sub formă de acetați lăsînd TeO_2, Au, Ag și SiO_2 în

precipitat. TeO_2 separat de soluția acetică, spălat și solvit în HCl se reduce la Te metalic prin tratarea cu SO_2 la cald. Din soluția acetică se recuperează acidul acetic, prin distilare, care intră din nou în circuit, reacționînd cu o nouă cantitate de produs tip B.

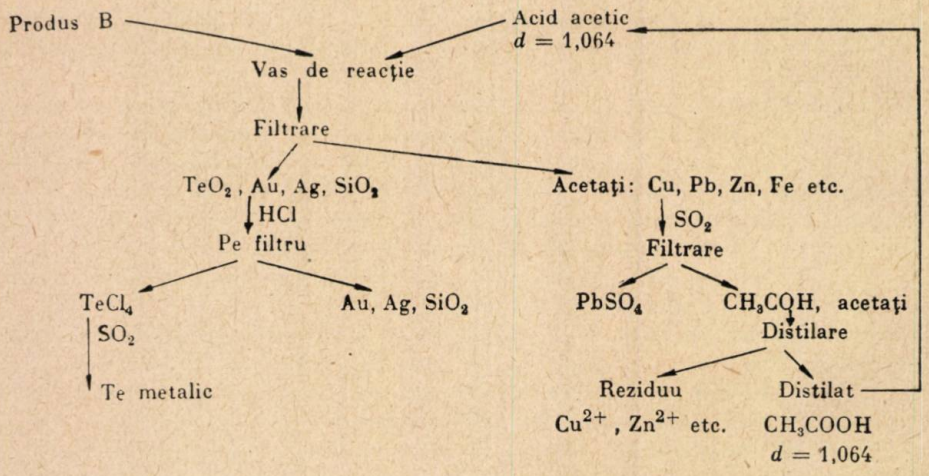
În ceea ce privește recuperarea acidului acetic și a neferoaselor care se găsesc în cantități mai mari, cum este Pb și Cu, în literatură sînt descrise de asemenea un mare număr de metode. O parte din ele valorifică Pb și Cu extrăgîndu-le din soluție ca acetați prin cristalizare [6] și [7]. Cele mai multe procedee separă Pb și Cu sub formă de carbonați prin barbotare de CO_2, cînd recuperează și acidul acetic. Astfel P l e i s s n e r [8] saturează complet cu CO_2 o soluție de 5 % $(NH_4)_2CO_3$ pe care o adaugă la o soluție de 15 % acetat de P b. L e f o r t [9] și A l t m a n n [10] barbotează CO_2 în acetat de Pb la temperaturi sub 0° în soluții diluate.

Metoda propusă folosește soluția acetică obținută de la dezagregarea produsului tip B fără a-i modifica concentrația. Ea se bazează pe proprietatea SO_2 în soluție apoasă de a se oxida în prezența ionilor de Cu^{2+}, la 85—95°, la H_2SO_4 conform ecuației:

$$2SO_2 + O_2 + 2H_2O = 2H_2SO_4$$

studiată de E. M. P e s i n și L. M. S a b a ș a v a [11]. Datorită formării ionilor de SO_4^{2-} în prezența ionilor de Cu^{2+}, la barbotarea SO_2 în soluție acetică, se obține precipitarea cantitativă a Pb^{2+} din soluția acetică. Prin distilarea filtratului se recuperează acidul acetic, iar din reziduu se extrage $CuSO_4$ rămas.

SCHEMA PRINCIPIULUI



MERSUL OPERAȚIEI

Se saturează acid acetic ($d = 1{,}064$) cu produs B, fin măcinat, într-un vas de reacție așezat pe baie de apă, sub agitare timp de 1—2 ore. Se filtrează soluția acetică pe o pîlnie filtrantă G 4, se spală precipitatul cu acid acetic și apoi cu apă. Precipitatul se tratează cu o soluție de 12 % HCl în care apoi se precipită Te cu SO_2 la fierbere, timp de 30 minute. Prin soluția acetică se trece un curent de SO_2 la cald și după 10—12 minute se lasă să se răcească, apoi se filtrează precipitatul de plumb, iar soluția obținută se distilă recuperîndu-se acidul acetic. Distilatul este lipsit de ionii metalici și are densitatea inițială de 1,064 putînd fi folosit la o nouă dezagregare. Precipitatul de telur este filtrat pe creuzet G 4 spălat cu apă și uscat la 105°. Rezultatele obținute pe amestecul de substanțe pure de tipul produsului B, uscate la 140° și tratate cu acid acetic de $d = 1{,}070$, timp de 10—36 ore la 100°, sînt date în tabloul nr. 5. De aici se vede că solubilitatea TeO_2 uscat în prealabil este sub un pro-

Tabloul nr. 5

TeO_2		Diferența TeO_2	Eroare %	
calculat	găsit		TeO_2	Te
0,4839	0,4803	0,0036	−0,74	−0,59
0,22115	0,26965	0,0014	−0,41	−0,32
0,1681	0,16725	0,00085	−0,51	−0,40
0,2218	0,2198	0,0020	−0,90	−0,71
0,11935	0,1180	0,00135	−1,12	−0,95
0,19155	0,19025	0,00130	−0,65	−0,51
0,0650	0,06448	0,00052	−0,80	−0,63

cent, în acid acetic de $d = 1{,}070$ în condițiile de lucru ale metodei propuse, încît metoda poate fi aplicată cu succes pe scară semiindustrială sau industrială.

Un studiu complet asupra recuperării acidului acetic și a celorlalte componente ale produsului tip B va fi dat ulterior ca o completare a prezentei lucrări.

CONCLUZII

În concluzie prezenta lucrare stabilește următoarele:

1. S-au cercetat pentru prima dată la noi în țară produsele din diferitele faze ale industriei neferoase spre a se găsi locul de concentrare a telurului.
2. S-a găsit că telurul urmărește metalele neferoase alături de care apare și se concentrează cel mai mult în produsele A_2 și apoi trece în produsele B_2.
3. S-a stabilit o nouă metodă de preparare a telurului din produsele tip B, pe cale umedă, prin dezagregare cu acid acetic și recuperarea acestuia.
4. S-a aplicat pentru prima dată recuperarea Pb din soluțiile acetice prin barbotare de SO_2 în prezența ionilor de cupru.

Institutul de chimie, Cluj

Prezentat la redacție la 15 ianuarie 1955

ПОЛУЧЕНИЕ В ЦВЕТНОЙ МЕТАЛЛУРГИИ БОГАТЫХ ТЕЛЛУРОМ ПРОДУКТОВ И РЕКУПЕРАЦИЯ ТЕЛЛУРА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В настоящей работе рассматривается путь, по которому следует теллур, сопутствующий цветным металлам при металлургической обработке этих последних, устанавливаются места, в которых он появляется, а также и продукты, в которых он концентрируется. В то же самое время указывается, как должны обрабатываться некоторые продукты различных стадий технологического процесса получения цветных металлов для получения больших концентраций теллура. Таким образом, впервые в РНР исследуется концентрация теллура в промышленности цветных металлов.

В работе описывается также новый метод получения теллура из этих продуктов путем обработки уксусной кислотой, причем Te осаждается в виде TeO_2, а перешедшая в фильтрат уксусная кислота рекуперируется перегонкой, вновь поступая в обращение.

Впервые применена рекуперация свинца из уксуснокислых растворов пропусканием SO_2 в присутствии ионов меди.

DÉCOUVERTE DE PRODUITS RICHES EN TELLURE DE L'INDUSTRIE DES MÉTAUX NON FERREUX ET RÉCUPÉRATION DU TELLURE

(RÉSUMÉ)

Dans le présent ouvrage on étudie la marche que suit le tellure en tant que métal qui accompagne les métaux non ferreux dans la métallurgie de ces derniers et on établit les points où il apparaît, ainsi que les produits dans lesquels il se concentre. On montre, en même temps, comment devraient être traités certains produits des différentes phases de l'élaboration des métaux non ferreux pour pouvoir obtenir de fortes concentrations de tellure. On a étudié ainsi, pour la première fois dans la République Populaire Roumaine, la concentration de tellure dans l'industrie des métaux non ferreux.

Le travail établit également une nouvelle méthode de préparation du tellure à partir de ces produits, par désagrégation à l'acide acétique, où le tellure précipite sous forme de TeO_2 et l'acide acétique, passé dans le filtrat, est récupéré par distillation, pouvant être utilisé à nouveau.

On a appliqué pour la première fois la récupération du Pb des solutions acétiques par barbotage de SO_2 en présence des ions de cuivre.

BIBLIOGRAFIE

1. E. A. Ostrumov, Zawodskaja Lab., **3**, 1088 (1934).
2. J. Seath, T. A. Beamisch, Ind. Eng. Chem. Anal. Edit., **9**, 373 (1937).
3. A. Brukl, W. Maximowics, Z. anal. Chem., **68**, 15 (1926).
4. R. Ripan, Gh. Marcu, Acad. R.P.R. Bul. ştiinţ., Secţiunea de ştiinţe tehnice şi chimice, **VI**, 243 (1954).

5. R. Paladi, Teză de doctorat, 1948.
6. C. Bauer, Chem. Ztg., **29**, 1 (1905).
7. Berthelot, C.R. Acad. Sci. Paris, **77**, 31 (1873); **78**, 1177 (1874).
8. Pleissner, Arb. Kais. Ges., **26**, 384 (1907).
9. Lefort, J. pharm. Chem., **3**, 15 (1849).
10. Altmann, Z. anorg. Chem., **52**, 219 (1907).
11. M. E. Pesin, M. L. Sabașava, M. E. Pozin, *Tehnologia sărurilor minerale*. Ed. tehnică, București, 1953, 341.

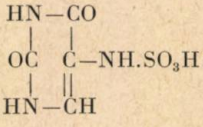
STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

DESPRE REDUCEREA 5-NITRO-URACILULUI CU DITIONIT DE SODIU *)

DE

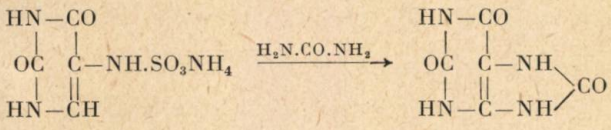
ACADEMICIAN COSTIN D. NENIŢESCU, MARGARETA AVRAM şi ELVIRA ŞLIAM

Într-o lucrare intitulată *O nouă sinteză a acidului uric şi a xantinei*, F. G. Fischer, W. P. Neumann şi I. Roch [1] arată că prin reducerea 5-nitro-uracilului, cu ditionit de sodiu, în soluţie puternic alcalină, se obţine un produs căruia i s-a atribuit formula unui acid sulfamic al uracilului (I):



(I)

Prin topirea acestei substanţe cu uree se obţine acid uric, iar prin încălzire cu formamidă se formează xantină. Se discută apoi mecanismul reacţiei de formare a acidului uric, care este formulat astfel:



În această reacţie grupa sulfonică se elimină ca sulfit de amoniu şi numai o mică parte se regăseşte, după topire, ca ion de sulfat în topitură.

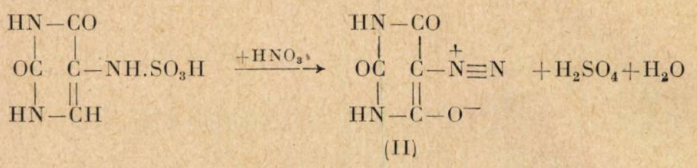
Autorii admit că înainte de închiderea inelului purinic are loc o oxido-reducere intramoleculară între atomul de hidrogen din poziţia 4 a inelului pirimidinic şi grupa sulfaminică din poziţia 5, prin care s-ar elimina (într-un mod nu tocmai bine clarificat) grupa sulfonică de la azot ca sulfit de amoniu.

---

*) Lucrare prezentată în şedinţa de Comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice, din 19 decembrie 1955.

Autorii consideră că nu este posibilă formarea unui compus intermediar cu oxigen în poziția 4, fiindcă uramilul (acidul 5-amino-barbituric), acidul tionuric (5-sulfamino-barbituric) și nici acidul pseudouric (acidul 5-ureido-barbituric) nu dau purine, adică nu se închide inelul imidazolic, la topire cu uree.

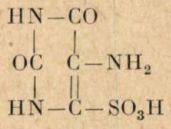
O altă reacție a substanței (I), descrisă de Fischer, Neumann și Roch, este acțiunea acidului azotic care duce, în mod surprinzător, la acidul diazo-barbituric (II):



(II)

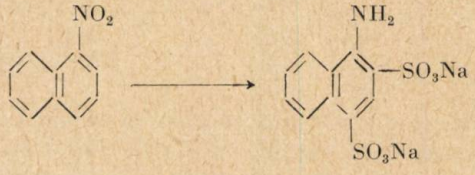
Pentru declanșarea reacției sînt necesare mici cantități de acid azotos, care, după părerea autorilor, se formează prin reducerea acidului azotic. Într-o notă adăugată la corectură, autorii arată că produsul (I) dă acid diazo-barbituric și $NaHSO_3$ și la tratarea cu nitrit de sodiu. Bisulfitul de sodiu reduce acidul azotic la acid azotos, în cazul diazotării cu acid azotic.

Spre deosebire de structura propusă de Fischer, Neumann și Roch pentru substanța (I) noi considerăm că presupusul 5-sulfamino-uracil este de fapt acidul 5-amino-4-uracil-sulfonic (III):



(III)

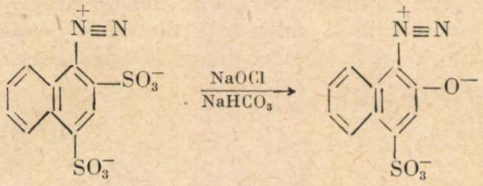
Această structură pare cea mai probabilă fiindcă și în alte cazuri, prin reducerea grupei nitro aromatice, cu sulfiți, în condițiile reacției Piria [2], se formează acizi amino-sulfonici. Ca exemplu fie menționate reducerea cu bisulfit de sodiu a acidului 5-nitro-salicilic, care duce la acizi amino-sulfo-benzoici [3] și reducerea α-nitro-naftalinei care dă acidul 1-naftilamin-2,4-disulfonic alături de puțin acid naftionic [4]:



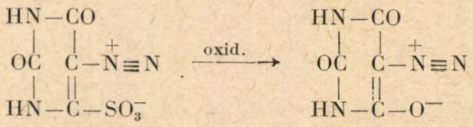
În unele cazuri însă, la reducerea nitro-derivaților aromatici, în condițiile reacției Piria, se formează și acizi sulfamici alături de acizi amino-sulfonici [5]. Este evident că acizii sulfamici nu sînt produși intermediari la formarea acizilor amino-sulfonici, deoarece prin încălzirea acizilor sulfamici cu acizi minerali nu are loc o transpoziție în acizi sulfonici.

Prin diazotarea normală a acidului 1-naftilamin-2,4-disulfonic se obține acidul diazo-sulfonic corespunzător. Interesant este însă faptul că prin oxidarea

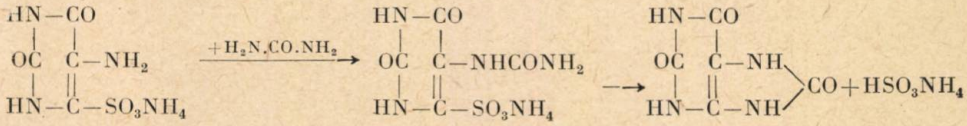
acestui compus, cu hipoclorit de sodiu, se formează o diazo-anhidridă similară cu aceea obținută în seria uracilului [6]:



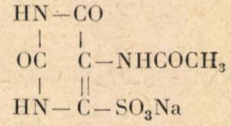
Deși mecanismul acestei reacții este încă nelămurit, este evident că reacția necesită un oxidant, ceea ce explică acțiunea favorabilă a acidului azotic la diazotarea 5-sulfamino-uracilului. Prin analogie cu această reacție, formarea acidului diazo-barbituric, la diazotarea substanței (I), poate fi formulată astfel:



Formarea acidului uric, la topirea substanței (I) cu uree se explică acum în mod simplu:

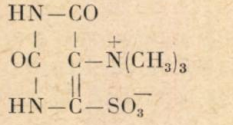


Pentru a dovedi că produsul de reducere a 5-nitro-uracilului cu ditionit de sodiu este acidul 5-amino-4-uracil-sulfonic și nu 5-sulfamino-uracilul (I), am tratat sarea de sodiu a acestei substanțe cu anhidridă acetică obținînd un monoacetil-derivat (IV). În acest compus grupa acetil este legată, cu mare probabilitate, de grupa amină primară.



(IV)

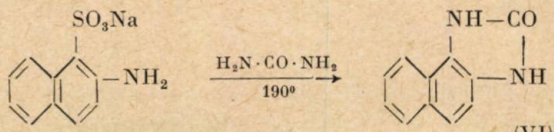
Prin metilarea exhaustivă a produsului de reducere a 5-nitro-uracilului, cu iodură de metil în prezența hidroxidului de sodiu, am obținut un trimetil-derivat, cu proprietățile unei betaine (V):



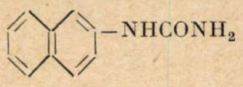
(V)

Pe baza acestor încercări socotim că formula (III) (respectiv sarea de sodiu), este formula cea mai probabilă a produsului de reducție a 5-nitro-uracilului cu ditionit de sodiu.

Cu scopul de a extinde această reacție în seria aromatică s-au făcut o serie de încercări de a condensa acidul 2-naftil-amin-1-sulfonic (acidul Tobias) (ca sare de sodiu) cu uree în topitură. S-a obținut un amestec complex de substanțe, din care s-a putut izola o substanță ale cărei proprietăți corespund cu ale naftil-oxo-imidazolului (VI). Ca produs secundar s-au izolat cantități mici de naftil-uree (VII):

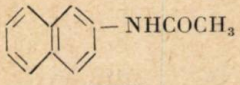


(VI)



(VII)

Prin topirea acidului Tobias cu acetamidă s-a obținut acetil-β-naftilamina (VIII), ceea ce dovedește că în acest tratament energic se elimină grupa sulfonică:



(VIII)

Alte numeroase încercări de a condensa cu uree, în topitură, benzensulfonatul de sodiu, β-naftil-sulfonatul de sodiu, *o*-clor-anilina, *o*-anilin-sulfonatul de sodiu, β-naftolul și rezorcina nu au dus la rezultate clare. În toate aceste reacții se formează, ca produs principal, un compus macromolecular, insolubil, ale cărui proprietăți și compoziție sînt mult asemănătoare sau chiar identice cu ale ciamelidei. Nu s-a putut stabili dacă în acest produs este încorporat sau nu restul aril.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

S-a pornit de la 5-nitro-uracilul obținut din uracil [7] după metoda descrisă de J o h n s o n [8] și s-a redus cu ditionit conform indicațiilor lui F i s c h e r și colaboratori [1]. S-a lucrat cu sarea de sodiu.

Acidul 5-acetilamino-4-uracil-sulfonic (sare de sodiu) (IV)

Un amestec de 5 g (0,022 moli) acid 5-amino-4-uracil-sulfonic (sare de sodiu) și 15 ml anhidridă acetică se încălzește, pe baia de ulei, la 135—140°, timp de 4 ore. După răcire se filtrează la trompă și se recristalizează din alcool diluat.

Sarea de sodiu a acidului 5-acetilamino-4-uracil-sulfonic cristalizează în ace lungi incolore, cu 3 molecule de apă de cristalizare.

$C_6H_6N_3O_6SNa\ 3H_2O$ (325,1)	Calculat	C	22,17	H 3,72	N 12,93
	Găsit		22,57	4,25	12,90

Prin uscarea substanței, în vid, cu pentoxid de fosfor, timp de 10 ore a 110°, se obține substanța anhidră.

$C_6H_6N_3O_6SNa$ (271,1) Calculat N 15,49
Găsit 15,30
15,39

Acidul 5-trimetilamino-4-uracil-sulfonic (V)

4,5 g (0,02 moli) acid 5-amino-4-uracil-sulfonic (sare de sodiu) se dizolvă în 100 ml soluție de hidroxid de sodiu 4,8 % (0,12 moli). Se picură, sub agitare, 17 g (0,06 moli) iodură de metil la temperatura camerei. Se continuă agitarea 4 ore la 20—30° apoi o oră la 50—60°. Soluția omogenă (după aproximativ o oră) se concentrează în vid. Reziduul uleios se dizolvă la cald în 100 ml metanol de 90 %. După filtrarea părților insolubile se concentrează în vid la sec. Rezidul se dizolvă în 15 ml metanol anhidru și se precipită cu eter anhidru. Produsul cristalizat, de culoare alb-gălbuie, se recristalizează din metanol anhidru. Se obține sarea de sodiu a acidului 5-trimetilamino-4-uracil-sulfonic, precipitat alb cristalin.

Prin acidularea sării de sodiu cu HCl 5 N se obține acidul 5-trimetilamino-4-uracil-sulfonic, cristale de culoare albă. Se recristalizează din apă, în care este ușor solubil. Pentru analiză se usucă, pînă la greutate constantă, la 50° în vid.

$C_7H_{11}O_5N_3S$ (249,17) Calculat C 33,72 H 4,45 N 16,86
Găsit 33,50 4,85 16,86
16,73

Laboratorul de chimie organică al Institutului politehnic, București

Prezentat la redacție la 26 septembrie 1955

О ВОССТАНОВЛЕНИИ НАТРИЕВЫМ ДИТИОНИТОМ 5-НИТРОУРАЦИЛА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Указывается, что продуктом восстановления 5-нитроурацила дитионитом натрия в очень щелочной среде является 5-амино-4-урацилсульфоновая кислота, а не 5-сульфаминоурацил. Авторами был изготовлен ацетил и производный триметил.

Предлагается механизм для образования мочевой кислоты соответственно ксантина при плавлении 5-амино-4-урацилсульфоновой кислоты с мочевиной.

LA RÉDUCTION DU 5-NITRO-URACILE PAR LE DITHIONITE DE SODIUM

(RÉSUMÉ)

Les Auteurs démontrent que le produit obtenu par réduction du 5-nitro-uracile par le dithionite de sodium, en milieu fortement alcalin, est l'acide

5-amino-4-uracile-sulfonique et non pas le 5-sulfamino-uracile. Ils ont préparé un acétyl- et un triméthyl-dérivé.

Les Auteurs proposent un mécanisme pour la réaction de formation de l'acide urique, respectivement la xanthine, par fusion de l'acide 5-amino-4-uracile-sulfonique en présence d'urée.

BIBLIOGRAFIE

1. F. G. Fischer, W. P. Neumann, I. Roch, Ber., **85**, 752 (1952).
2. Piria, Ann., **78**, 31 (1851); H. W. Hunter, M. M. Sprung, J. Am. Chem. Soc. **53**, 1432 (1931).
3. W. G. Gulinov, Ukrainski himiceski jurnal, partea tehnică, **4**, 227 (1929); Chem. Abstr., **24**, 2249 (1930).
4. — Ukrainski himiceski jurnal, partea tehnică, **7**, 64 (1932); Chem. Abstr., **27**, 3929 (1933); T. H. Bucherer, H. Barsch, J. prakt. Chem., (2), **111**, 329 (1925); A. Seyewetz, Vigant, C. R. Acad. Sci. Paris, **174**, 296 (1922).
5. H. Weil, E. Moser, Ber., **55**, 732 (1922); H. Weil, P. Wassermann, Ber., **55**, 2533 (1922).
6. H. E. Fierz-David, L. Blangey, *Farbenchemie*. Springer, Viena, ed. 6, 1946, 170; Friedländer, **VIII**, 656—657.
7. G. E. Hilbert, J. Am. Chem. Soc., **54**, 2076 (1932).
8. T. B. Johnson, J. Matsuo, J. Am. Chem. Soc., **41**, 783 (1919).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

DESPRE STEROIDE
VII. ESTERI NITRICI ÎN CLASA ACIZILOR BILIARI

DE

ACADEMICIAN I. TĂNĂSESCU, I. GANEA, F. HODOŞAN şi M. TERDIC

Într-o serie de memorii [1], [2] şi [3] s-a arătat că amestecul nitrant în anumite condiţii de temperatură şi concentraţie este capabil să oxideze selectiv acidul colic. Substanţele care rezultă în acest caz sînt rezultatul a două reacţii simultane: acidul azotic pe de o parte poate să esterifice hidroxilii acidului respectiv, iar pe de altă parte poate să-i oxideze. Cele două procese decurgînd concomitent, diferenţa dintre vitezele lor este cauza apariţiei unora sau a altora dintre combinaţii, adică formarea esterilor nitrici sau a produşilor oxidaţi.

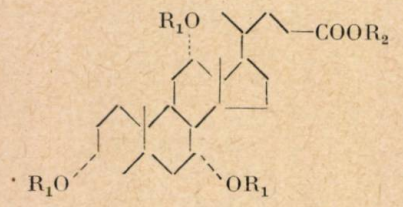
Din cauza interesului sintetic, datorit faptului că esterii nitrici se pot hidroliza selectiv faţă de esterii carboxilici, ne-am concentrat atenţia asupra obţinerii unor astfel de esteri nitrici pe diferite căi, de la diferiţi acizi biliari.

O metodă generală, mai recentă, de obţinere a esterilor nitrici [4] este cea care supune substanţele cu funcţiuni hidroxilice acţiunii unui amestec de acid azotic concentrat şi anhidridă acetică. Deoarece efectuarea acestei sinteze este comodă, iar randamentele foarte bune — aproape cantitative — ne-am oprit la această metodă.

Pentru a ne convinge de posibilităţile de generalizare a acestei sinteze în clasa acizilor oxi-colanici s-au studiat următorii acizi:

A. Plecînd de la esterul metilic al acidului colic (I) s-a obţinut esterul trinitric corespunzător (II) cu p.t. 171—172° şi $[\alpha]_D = +71°5$ (în cloroform). Prin tratarea acestui ester (II) cu hidroxid de potasiu în alcool metilic s-a obţinut trinitratul acidului colic (III) cu p.t. 214—215° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +73°$ (în acetonă). De la acidul (III), prin esterificare cu alcool etilic în prezenţa acidului clorhidric s-a obţinut trinitratul colatului de etil (IV), cu p.t. 157—159°, $[\alpha]_D = +73°6$ (în cloroform). Printr-o reducere acetilantă a esterului (II), făcută cu pulbere de zinc şi anhidridă acetică [5] s-a obţinut 3α, 7α, 12α-triacetoxi-colanatul de metil (V). Este ştiut că esterii nitrici, spre deosebire de esterii carboxilici nu pot fi scindaţi decît într-un mediu reducător. Într-adevăr prin tratarea trinitratului colatului de metil (II) cu zinc şi acid acetic se obţine colatul de metil (I), de la care s-a pornit.

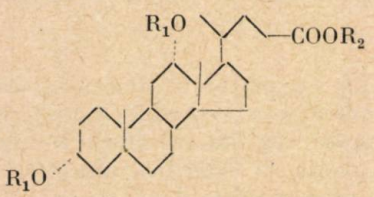
Toată aceasta succesiune de reacții și comportări dovedește exactitatea constituțiilor atribuite de noi substanțelor respective



(I) $R_1=H$; $R_2=CH_3$
(II) $R_1=NO_2$; $R_2=CH_3$
(III) $R_1=NO_2$; $R_2=H$
(IV) $R_1=NO_2$; $R_2=C_2H_5$
(V) $R_1=COCH_3$; $R_2=CH_3$

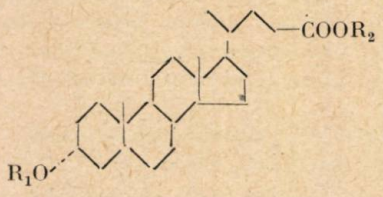
B. Pornind de la acidul dezoxi-colic (VI) se obține esterul dinitric corespunzător (VII) cu p.t. 199° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +96°,1$ (în cloroform), care sub acțiunea alcoolului metilic în prezența acidului clorhidric dă naștere dinitratului 3α, 12α-dioxi-colanatului de metil (VIII) cu p.t. 105, 5—106°,5, $[\alpha]_D = +92°,8$ (în cloroform).

Și în acest caz, prin scindare în mediu reducător (zinc și acid acetic) pornind de la dinitratul acidului dezoxi-colic (VII) se recapătă acidul dezoxi-colic (VI)



(VI) $R_1=H$; $R_2=H$
(VII) $R_1=NO_2$; $R_2=H$
(VIII) $R_1=NO_2$; $R_2=CH_3$

C. Pornind de la litocolatul de metil (IX) și lucrînd în aceleași condiții se obține nitratul 3α-oxi-colanatului de metil (X) cu p.t. 113—114°, $[\alpha]_D = +38°,2$ (în cloroform). Esterul (X) prin hidroliză cu hidroxid de potasiu în alcool metilic dă naștere nitratului acidului litocolic (XI) cu p.t. 169—170°, $[\alpha]_D = 39°,2$ (în cloroform). Prin scindarea acestui acid (XI) în mediu reducător se obtine acidul litocolic (XII)



(IX) $R_1=H$; $R_2=CH_3$
(X) $R_1=NO_2$; $R_2=CH_3$
(XI) $R_1=NO_2$; $R_2=H$
(XII) $R_1=H$; $R_2=H$

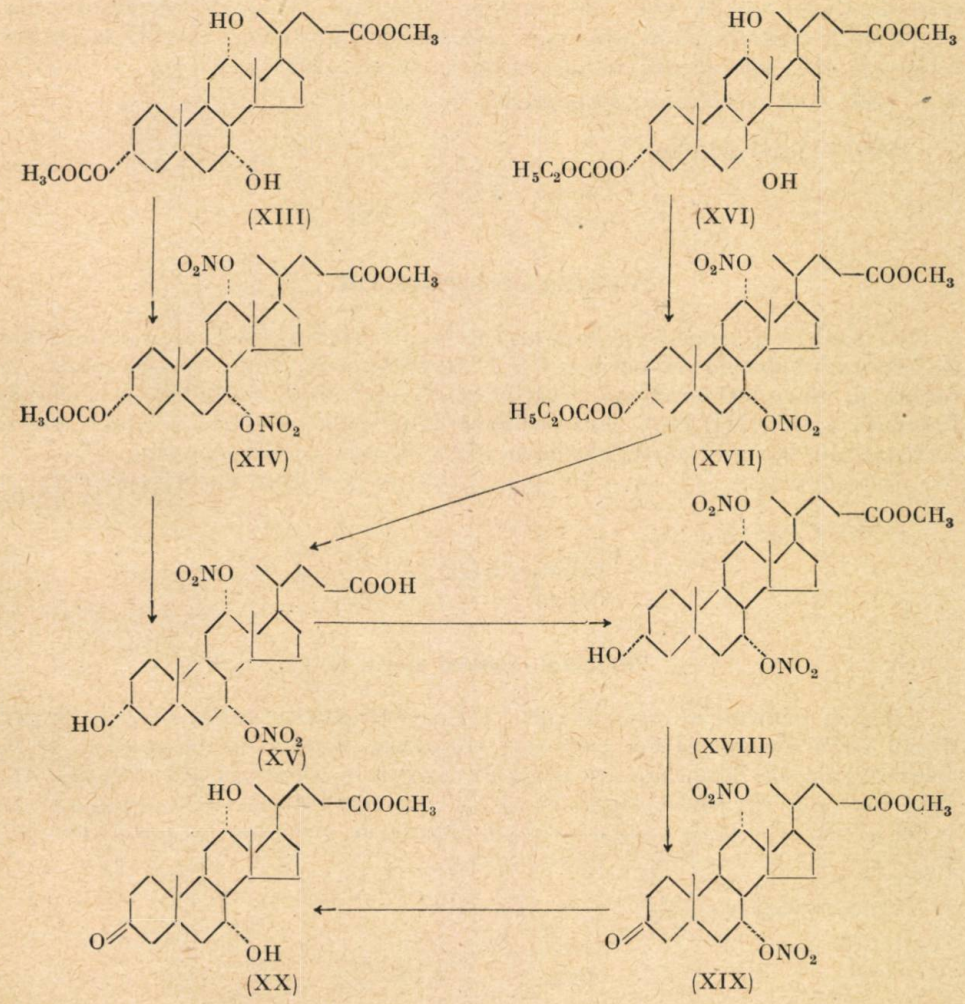
Interesul sintetic al reacțiilor de mai sus, constă deci în faptul dovedit experimental și în cazul esterilor oxi-colanici și anume că sub acțiunea hidroxizilor alcalini se hidrolizează exclusiv esterii carboxilici. Dimpotrivă, esterii nitrici sînt foarte rezistenți la acest fel de hidroliză, ei neputînd fi scindați decît într-un mediu reducător. Aceasta înseamnă că prin intermediul esterilor nitrici se pot face hidrolizări selective.

Într-adevăr, pornind de la 3α-acetoxi-7α, 12α-dioxicolanatul de metil (XIII) s-a obținut esterul dinitric corespunzător (XIV) cu p.t. 183—184°, $[\alpha]_D = +67°,3$ (în cloroform), care prin hidroliză cu hidroxid de potasiu în alcool metilic dă naștere 7,12-dinitratului acidului 3α, 7α, 12α-trioxi-colanic (XV) cu p.t. 206—208° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +63°,5$ (în dioxan).

De asemenea, pornindu-se de la 3-carbetoxi-derivatul 3α, 7α, 12α-trioxi-colanatului de metil (XVI) se obține dinitratul corespunzător (XVII) cu p.t. 197—199° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +73°,8$ (în cloroform). Substanța (XVII) prin hidroliză sub acțiunea hidroxidului de potasiu metilalcoolic, dă naștere aceluiași dinitrat (XV).

Este evident că dacă esterii nitrici rezistă acțiunii oxidante a acidului cromic, atunci putem face oxidări selective. De fapt reacțiile merg net în acest sens și anume, prin oxidarea 7,12-dinitratului 3α, 7α, 12α-trioxi-colanatului de metil (XVIII) cu p.t. 172,5—173°,5, $[\alpha]_D = +61°,7$ (în dioxan), se obține dinitratul 3-ceto-7α, 12α-dioxi-colanatului de metil (XIX) cu p.t. 181—182°, care prin scindare în mediu reducător pune în libertate 3-ceto-7α, 12α-dioxi-colanatul de metil (XX) cu p.t. 172—174°, identic cu cel din literatură [6]. Mai recent, pentru aceeași substanță (XX), literatura indică un punct de topire ceva mai ridicat [7].

În felul acesta se pot prepara variați acizi oxi-cetocolanici



PARTEA EXPERIMENTALĂ

Trinitratul colatului de metil (II)

Se picură 12,5 cm³ acid azotic (d = 1,50) în 50 cm³ anhidridă acetică răcită cu un amestec de gheață și sare; se menține temperatura tot timpul adăugării în jur de 0°. Se răcește apoi amestecul la — 5° și se picură cu agitare, timp de 15 minute o soluție de 5 g colat de metil (I) în 50 cm³ cloroform anhidru, lipsit de alcool etilic. După ce toată soluția cloroformică a fost adăugată, se continuă agitarea încă 5 minute. În tot timpul reacției temperatura nu trebuie să depășească 0°. Se toarnă apoi cu agitare puternică, soluția în circa 1 litru apă cu gheață și se lasă să stea cîteva ore la temperatura camerei. După separarea stratului cloroformic și extragerea soluției apoase cu cloroform, extractele cloroformice reunite se spală bine cu apă, apoi cu o soluție de carbonat de sodiu și în cele din urmă din nou cu apă. După uscare pe sulfat de sodiu anhidru, se îndepărtează cloroformul prin evaporare la temperatura camerei. Cleiul rămas, prin macerare cu puțin alcool metilic se transformă într-o masă cristalină, din care prin recristalizare din alcool metilic se obține substanța (II), cristalizată în ace subțiri, cu p.t. 171—172°, $[\alpha]_D = +71°,5$ ($c = 4,369$; în cloroform). Randament = 5 g.

Analiza $C_{25}H_{39}O_{11}N_3$

Calculat: N% 7,54
Găsit: 7,36; 7.31

Trinitratul acidului colic (III)

Se fierb 5 g trinitrat al colatului de metil (II) timp de 4 ore într-o soluție de 200 cm³ hidroxid de potasiu 0,5 N metil-alcoolic. După răcire, soluția se toarnă în circa 500 cm³ apă conținînd 15 cm³ acid clorhidric concentrat. Precipită acidul (III) brut, care se filtrează, se spală cu apă și se usucă. După recristalizare din acid acetic glacial se obțin cristale aciculare cu p.t. 214—215° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +73°$ ($c = 2,155$; în acetonă). Randament = 3,5 g.

Analiza $C_{24}H_{37}O_{11}N_3$

Calculat: N% 7,73
Găsit: 7,56; 766

Trinitratul colatului de etil (IV)

0,35 g trinitrat al acidului colic (III) se tratează cu un amestec de 20 cm³ alcool etilic absolut și 0,7 cm³ acid clorhidric concentrat (d = 1,19). După fierbere timp de 30 de minute și răcire, soluția se toarnă în apă. Esterul (IV) brut depus, se filtrează se spală cu apă și se usucă. Prin recristalizare din alcool etilic se obțin cristale strălucitoare, în formă de ace fine, cu p.t. 157—159°, $[\alpha]_D = +73°,6$ ($c = 0,187$; în cloroform).

Analiza $C_{26}H_{41}O_{11}N_3$

Calculat: N% 7,35
Găsit: 7,29; 7,32

3α, 7α, 12α-Triacetoxi-colanatul de metil (V)

Se dizolvă la rece 5 g trinitrat al colatului de metil (II) în 100 cm³ anhidridă acetică. Se adaugă în porțiuni mici, cu agitare, circa 30 g pulbere de zinc. În timpul reacției temperatura se ridică spontan pînă la 115—120°. Adăugarea zincului durează între 45 minute și o oră, timp după care nu se mai observă degajare de vapori nitroși (hîrtie iodamidonată). Soluția încă fierbinte se filtrează, reziduul se spală cu acid acetic glacial, iar filtratul se toarnă în circa 400 cm³ apă cu gheață. După ședere de cîteva ore la temperatura camerei se extrage cu eter. Soluția eterică se spală cu apă, cu soluție de carbonat de sodiu, din nou cu apă și se usucă pe sulfat de sodiu anhidru. Cleiul obținut prin evaporarea eterului, după macerare cu alcool metilic se transformă într-o masă cristalină. Din aceasta, prin recristalizare din benzină 40—70° și apoi din alcool metilic apos se obține triacetoxi-derivatul (V) cu p.t. 83,5—88°. Substanța (V) arată toate comportările triacetil-derivatului esterului colic obținut prin acțiunea anhidridei acetice asupra colatului de metil [8].

Obținerea colatului de metil (I) din trinitratul 3α, 7α, 12α-trioxi-colanatului de metil (II)

Se dizolvă 0,5 g substanță (II) în 13 cm³ acid acetic glacial. Se adaugă în porțiuni mici, cu agitare, 2 g pulbere de zinc. În timpul adăugării se observă o ridicare spontană a temperaturii și degajare de vapori nitroși, care încetează la sfîrșitul reacției. Soluția caldă se filtrează, reziduul se spală cu puțin acid acetic glacial, iar filtratul se toarnă în apă cu gheață. Precipitatul depus se filtrează, se spală cu apă și se usucă. După recristalizare din alcool metilic și uscare în etuvă întîi la 80° apoi la 120°, se obține colatul de metil (I) cu p.t. 153,5—155°. Esterul (I) obținut pe această cale nu prezintă depresiune a punctului de topire cu colatul de metil obținut prin esterificarea acidului colic.

Dinitratul acidului dezoxi-colic (VII)

Se pornește de la acid dezoxi-colic (VI) și se esterifică cei doi hidroxili în condițiile date în cazul colatului de metil (I). Se obține acidul (VII) cristalizat din acid acetic glacial în formă de ace, cu p.t. 199° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +96°,1$ ($c = 4,138$; în cloroform).

Analiza $C_{24}H_{38}O_8N_2$

Calculat: N% 5,81
Găsit: 5,91; 5,84

Dinitratul dezoxi-colatului de metil (VIII)

Se fierbe timp de 30 de minute 1 g dinitrat al acidului dezoxi-colic (VII) în 30 cm³ alcool metilic conținînd 5 % acid clorhidric concentrat. Se toarnă apoi în multă apă. Precipitatul depus se filtrează, se spală cu apă și după uscare se recristalizează din alcool metilic. Depun cristale aciculare, cu p.t. 105,5 —106°,5, $[\alpha]_D = +92°,8$ ($c = 2,666$; în cloroform).

Analiza $C_{25}H_{40}O_8N_2$

Calculat: N% 5,64
Găsit: 5,81; 5,77

Obținerea acidului dezoxi-colic (VI) din dinitratul acidului 3α, 12α-dioxi-colanic (VII)

Se procedează ca în cazul obținerii colatului de metil (I) din trinitratul corespunzător (II). După purificare se obține acidul dezoxi-colic (VI) cu p.t. 173—174°. Substanța nu prezintă nici o depresiune a punctului de topire cu acidul dezoxi-colic, preparat pe altă cale.

Nitratul litocolatului de metil (X)

Se pornește de la litocolat de metil (IX) și se esterifică hidroxilul ca în cazul colatului de metil (I). Se obține nitratul (X) care cristalizează din alcool metilic în formă de plăci, cu p.t. 113—114°, $[\alpha]_D = 38°,2$ ($c = 3,137$; în cloroform).

Analiza $C_{25}H_{41}O_5N$

Calculat: N% 3,32
Găsit: 3,49; 3,44

Nitratul acidului litocolic (XI)

Se fierb timp de 4 ore, 4,5 g nitrat (X) într-o soluție de hidroxid de potasiu metanolic 0,5 N. Se toarnă soluția în 1 litru apă cu gheață conținînd 10 cm^3 acid clorhidric concentrat. Precipitatul depus se filtrează, se spală cu apă și după uscare se recristalizează din metanol. Cristalizează substanța (XI) cu p.t. 169—170°, $[\alpha]_D = +39°,2$ ($c = 3,543$; în cloroform).

Analiza $C_{24}H_{39}O_5N$

Calculat: N% 3,36
Găsit: 3,61; 3,51

Obținerea acidului litocolic (XII) din nitratul acidului 3α-oxi-colanic (XI)

Se dizolvă 0,2 g nitrat (XI) în 25 cm^3 acid acetic glacial. Se adaugă în porțiuni mici, cu agitare, 1 g pulbere de zinc. Se procedează apoi ca în cazul obținerii colatului de metil (I) din trinitratul corespunzător (II). Prin recristalizare din acid acetic glacial depune acidul litocolic (XII), cu p.t. 185—186°. Substanța nu prezintă nici o depresiune a punctului de topire cu acidul litocolic preparat pe altă cale.

Dinitratul 3α-acetoxi-7α, 12α-dioxi-colanatului de metil (XIV)

Într-un amestec nitrant format din 2,5 cm^3 acid azotic (d = 1,51) și 10 cm^3 anhidridă acetică, preparat ca în cazul substanței (II) și răcit la —4°, se introduc în porțiuni mici, agitînd 1,18 g 3-acetoxi-7,12-dioxi-colanat de metil (XIII), cu p.t. 149—151°, preparat după literatură. Adăugarea substanței (XIII) durează circa 30 de minute, ea dizolvîndu-se cu ușurință în acest timp în amestecul nitrant. Se mai agită apoi 45 de minute. În tot timpul operației temperatura se menține sub 0°. Soluția se toarnă apoi în 150 cm^3 apă, iar precipitatul depus se lasă să stea peste noapte. Se filtrează, se spală bine cu apă și se trage la trompă pînă la îndepărtarea apei. Prin recristalizare din metanol

depune substanța (XIV) cristalizată în plăci mici rombice, cu p.t. 183—184° (cu descompunere), $[\alpha]_D = 67,°3$ ($c = 1,522$; în cloroform).

Analiza $C_{27}H_{42}O_{10}N_2$

Calculat: N% 5,28
Găsit: 5,02; 5,00

Dinitratul 3-carbetoxi-colatului de metil (XVII)

Se procedează ca în cazul substanței (XIV), amestecul nitrant fiind format din 70 cm³ anhidridă acetică și 17,5 cm³ acid azotic (d = 1,51) pentru 6,75 g 3-carbetoxi-colat de metil (XVI) preparat după indicațiile din literatură [9]. După turnare în circa 300 cm³ apă, ședere de cîteva ore, filtrare, spălare cu multă apă și uscare la temperatura camerei, se obțin 2,4 g produs brut (XVII). După două recristalizări din mult metanol depune substanța (XVII) cristalizată în ace fine, cu p.t. 197—199° (cu descompunere), $[\alpha]_D + 73°,8$ (c=10, 3688; în cloroform).

Analiza $C_{28}H_{44}O_{11}N_2$

Calculat: N% 4,79
Găsit: 5,00; 4,95

7,12-Dinitratul acidului 3 α, 7 α, 12 α-trioxi-colanic (XV)

a) 0,8 g dinitrat (XIV) se fierb timp de 3,5 ore într-o soluție de hidroxid de potasiu metanolic formată din 0,6 g hidroxid de potasiu, 0,5 cm³ apă și 20 cm³ metanol. După filtrare soluția se toarnă în circa 200 cm³ apă acidulată cu acid clorhidric. Precipitatul depus se filtrează, se spală bine cu apă și încă umed se cristalizează din puțin alcool etilic. După uscare în etuvă la 100° substanța (XV) are p.t. 193—195° (cu descompunere). După a doua recristalizare din alcool etilic, împreună cu substanța obținută prin concentrarea la rece a soluției rămasă de la prima recristalizare, se obține substanța (XV) cristalizată în ace fine cu p.t. 204—206° (cu descompunere).

b) Aceeași substanță (XV) se obține prin fierberea timp de 4 ore a 1,9 g dinitrat (XVII) într-o soluție de 175 cm³ hidroxid de potasiu metanolic 5 %. Se lucrează ca mai sus. După recristalizare din alcool etilic se obțin 1,16 g acid (XV) cristalizat în ace, cu p.t. 206—208° (cu descompunere), $[\alpha]_D = +63°,5$ ($c = 8,1996$; în dioxan).

Analiza $C_{24}H_{38}O_9N_2$

Calculat: N% 5,62
Găsit: 5,45; 5,40

7,12-Dinitratul 3α, 7α, 12α-trioxi-colanatului de metil (XVIII)

2 g dinitrat (XV) se fierb timp de 3 ore în 300 cm³ metanol cu 6,4 cm³ acid sulfuric (d = 1,84). După turnare în 2,5 l apă se obține un precipitat amorf, care se filtrează, se spală bine cu apă și se usucă la aer. După recristalizare din metanol depun 1,65 g substanță (XVIII) cristalizată în formă de ace, cu p.t. 172, 5—173°,5 $[\alpha]_D = +61°,7$ ($c = 7,336$; în dioxan).

Analiza $C_{25}H_{40}O_9N_2$

Calculat: N% 5,46
Găsit: 5,37; 5,40

Dinitratul 3-ceto-7α, 12α-dioxi-colanatului de metil (XIX)

Într-o soluție formată din 3,5 g substanță (XVIII) în 45 cm³ acid acetic glacial se picură cu agitare energică o soluție de 1,8 g CrO_3 în 45 cm³ acid acetic glacial. În tot timpul reacției temperatura se menține în jur de 15°. Se lasă să stea apoi timp de 24 ore la temperatura camerei, după care se toarnă în multă apă. Precipitatul depus se filtrează, se spală cu apă și se usucă. După recristalizări repetate din metanol și ester acetic se obține substanța (XIX) cristalizată în plăci mici, cu p.t. 181—182°.

Analiza $C_{25}H_{38}O_9N_2$

Calculat: N% 5,48
Găsit: 5,38;5,41

3-Ceto-7α, 12α-dioxi-colanatul de metil (XX)

1,2 g dinitrat (XIX) se dizolvă în 30 cm³ acid acetic glacial, cu o ușoară încălzire pînă la 50—60°, după care se răcește la temperatura camerei. Se adaugă în porțiuni mici 5 g pulbere de zinc, lucrîndu-se ca în cazul obținerii substanței (I) din trinitratul (II). Soluția acetică filtrată se toarnă în 400 cm³ apă și se lasă să stea peste noapte. Precipitatul, galben, amorf depus, se filtrează, se spală bine cu apă și se usucă. După repetate recristalizări din benzen-benzină 50—60°, depune substanța (XX) cristalină, cu p.t. 170—173°. Prin filtrarea soluției benzenice a substanței peste cărbune animal se obține substanța (XX) cu p.t. 172—174°.

Analiza $C_{25}H_{40}O_5$

Calculat: C% 71,46; H% 9,59
Găsit: 71,03; 71,39; 9,38; 9,15

Institutul de chimie al Academiei R.P.R., Filiala Cluj
și Laboratorul de chimie organică al universității V. Babeș, Cluj

Prezentată la redacție la 1 noiembrie 1955

О СТЕРОИДАХ
VII. АЗОТНЫЕ ЭФИРЫ В КЛАССЕ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

А. Нитрацией холевокислого метила (I) получается соответствующая трехазотнокислая соль (II) с т. пл. 171—172°, а эта последняя путем гидролиза с метаноловой гидроокисью калия переходит в трехазотнокислую соль холевой кислоты (III) с т. пл. 214—215° (с разложением), являющуюся веществом, в обычных условиях превращающимся в соответствующий этиловый эфир (IV) с т. пл. 157—159°. В результате ацетилирующего восстановления — при помощи цинкового порошка и уксусного ангидрида — эфир (II) переходит в трехацетилпроизводное холевого эфира (V). Путем расщепления трехазотнокислой соли (II) в восстановительной среде — при помощи цинка и ледяной уксусной кислоты — получается холевокислый метил (I).

Б. Путем нитрации дезоксихолевой кислоты (VI) получается соответствующая двуазотнокислая соль (VII) с т. пл. 199° (с разложением) — соединение, которое в результате этерификации в метанол переходит в метиловый эфир (VIII) с т. пл. 105,5—106,5°. Посредством расщепления в восстановительной среде двуазотнокислая соль (VII) превращается в дезоксихолевую кислоту (VI).

В. В тех же самых условиях литохолевокислый метил (IX) нитруется, образуя азотнокислую соль (X) с т. пл. 113—114° — соединение, которое в результате щелочного гидролиза освобождает азотнокислую соль литохолевой кислоты (XI) с т. пл. 169—170°. Путем восстановительного расщепления азотнокислой соли (XI) получается литохолевая кислота (XII).

Исходя из 3α-ацетокси-7α, 12α-диоксихолевокислого метила (XIII), получают соответствующую двуазотнокислую соль (XIV) с т. пл. 183—184° (с разложением), которая в результате гидролиза с метаноловой гидроокисью калия переходит в 7,12-двуазотнокислую соль холевой кислоты (XV) с т. пл. 206—208° (с разложением). Можно получить эту же кислоту (XV), исходя из 3-карбетоксихолевокислого метила (XVI) и оперируя аналогичным образом. В этом случае проходят через промежуточную стадию (XVII) с т. пл. 197—199° (с разложением). Из 7,12-двуазотнокислого-холевокислого метила (XVIII) с т. пл. 172,5—173,5°, посредством окисления CrO_3 в ледяной уксусной кислоте, получается двуазотнокислая соль 3-цето-7α, 12α-диоксихолевокислого метила (XIX) с т. пл. 181—182°, а эта последняя, в результате расщепления в восстановительной среде, переходит в 3-цето-7α, 12α-диоксихолевокислый метил (XX) с т. пл. 172—174°.

SUR LES STÉROÏDES
VII. ESTERS NITRIQUES DE LA CLASSE DES ACIDES BILIAIRES

(RÉSUMÉ)

A. Par nitration du cholate de méthyle (I) on obtient le trinitrate respectif (II), PF 171—172°, qui par hydrolyse à l'aide de l'hydroxyde de potassium en alcool méthylique, engendre le trinitrate de l'acide cholique (III), PF 214—215° (avec décomposition), substance qui s'éthérifie dans les conditions classiques et engendre l'éther éthylique respectif (IV), PF 157—159°. Par réduction acétylante — poudre de zinc et anhydride acétique — l'éther (II) engendre le dérivé triacétylé de l'éther cholique (V). Par hydrolyse en milieu réducteur — poudre de zinc et acide acétique glacial — du trinitrate (II), on obtient le cholate de méthyle (I).

B. Par nitration de l'acide désoxycholique (VI), on obtient le dinitrate respectif (VII), PF 199° (avec décomp.), substance qui, par éthérification à l'aide de l'alcool méthylique, engendre l'éther méthylique (VIII), PF 105,5—106,5°. Par hydrolyse en milieu réducteur, le dinitrate (VII) engendre l'acide désoxycholique (VI).

C. Dans les mêmes conditions, le lithocholate de méthyle (IX) engendre le nitrate (X), PF 113—114°, substance qui par hydrolyse alcaline engendre le nitrate de l'acide lithocholique (XI), PF 169—170°. Par hydrolyse en milieu réducteur du nitrate (XI) on obtient l'acide lithocholique (XII).

En partant du 3 α-acétoxy-7α, 12α-dihydroxycholanate de méthyle (XIII), on obtient le dinitrate respectif (XIV), PF 183—184° (avec décomp.), qui, par hydrolyse avec de l'hydroxyde de potassium en milieu d'alcool méthylique, engendre le 7,12-dinitrate de l'acide cholique (XV), PF 206—208° (avec décomp.). On obtient le même acide (XV) en partant du 3α-carbéthoxy-cholate de méthyle (XVI) et en effectuant les opérations comme dans le cas précédent. Dans ce dernier cas, on obtient, comme phase intermédiaire, la substance (XVII), PF 197—199° (avec décomp.). A partir du 7,12-dinitrate du cholate de méthyle (XVIII), PF 172—173,5°, par oxydation avec CrO_3 en acide acétique glacial, on obtient le dinitrate du 3-céto-7α, 12α-dihydroxy-cholanate de méthyle (XIX), PF 181—182°, qui, par hydrolyse en milieu réducteur, engendre le 3-céto-7α, 12α-dihydroxy-cholanate de méthyle (XX), PF 172—174°.

BIBLIOGRAFIE

1. I. Tănăsescu, E. Ramonțian, Acad. R.P.R., Bul. științ., seria A, București, **I**, 8, 733 (1949).
2. I. Tănăsescu, I. Ganea, F. Hodoșan, Acad. R.P.R., Bul. științ., Secțiunea de științe tehnice și chimice, București, **IV**, 1—2, 83 (1952).
3. I. Tănăsescu, I. Ganea, Acad. R.P.R., Bul. științ., Secțiunea de științe tehnice și chimice, București, **IV**, 1—2, 159 (1952).
4. G. Desseigne, Bull. Soc. Chim. France, **48** (1946).
5. D. Vörländer, B. Drescher, Ber. dtsch. chem. Ges., **34**, 1858 (1901).
6. A. S. Jones, M. Webb, F. Smith, J. Chem. Soc. London, 1949, 2164.
7. S. Pietre, G. Traverso, Gazz. chim. ital., **81**, 687 (1951).
8. H. Wieland, W. Kapitel, Hoppe Seyler's Z. physiol. chem., **212**, 269 (1932).
9. W. Borsche, Ber. dtsch. chem. Ges., **57**, 1621 (1924).

STUDII ȘI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

ACȚIUNEA LECITINEI ASUPRA PĂTRUNDERII NOVOCAINEI PRIN MEMBRANA LICHIDĂ APĂ-ALCOOL *IZO*-AMILIC*)

DE

ACADEMICIAN EUGEN MACOVSCHI și LILICA BOTOȘĂNEANU

În 1951, S. Lambin și S. Bazin [1] au subliniat faptul cunoscut mai de mult (J. Régnier) că acțiunea anesteziciilor locali depinde de reacția mediului și anume: este slabă în mediu acid și puternică în mediu alcalin. Cum sărurile de novacaină ca și sărurile altor anestezici locali asemănători sînt puternic disociate [2], iar bazele respective sînt baze slabe [3], s-a ajuns la concluzia (vezi de ex. [1]) că moleculele nedisociate ale anesteziciilor locali și nu cationii lor exercită asupra organismului efectul farmacodinamic cunoscut.

Între timp s-a dovedit că anestezicii locali, deși sînt solubili în apă, prezintă o lipofilie pronunțată. Așa de exemplu, J. Régnier, P. Gérard, A. Quevauviller [4] au arătat că novacaina se dizolvă în anumită măsură în medii lipoidice și poate provoca scăderea tensiunii interfaciale între ulei și apă [5]. De altfel în diferite tratate, ca de exemplu, în cel publicat de J. Adriani [6], se menționează că anestezicii locali introduși în organism pătrund și se localizează în special în țesuturile bogate în lipoizi.

Dacă presupunem că moleculele nedisociate ale novocainei, pentru a-și exercita acțiunea lor anestezică, pătrund în formațiunile lipoidice ale organismului, înseamnă că ele trebuie să traverseze membranele bogate în fosfolipide care separă fazele apoase de cele lipoidice.

Noi nu am întîlnit însă lucrări în care să se fi cercetat difuzia novocainei din mediul apos în mediul lipoidic prin membrane lichide încărcate sau nu cu fosfolipide; am găsit numai rezultatele unor cercetări relative la difuzia novocainei prin membrane care nu separau un mediu apos de altul lipoidic, ci două medii apoase. Printre astfel de cercetări pot fi menționate acelea publicate de J. Régnier, A. Quevauviller și A. Fieyre [7], [8], [9] și [10] și de V. A. Kostitzin [11], referitoare la difuzia novocainei prin membrane de celofan, precum și cercetările lui J. H. Weatherby [12] și

*) Lucrare prezentată în ședința de Comunicări a Secției de științe chimice, din 28 octombrie 1955

[13] referitoare la difuzia unor alcaloizi prin membrane de colodiu încărcate cu lecitină și cefalină.

Pentru a cerceta, *in vitro*, pătrunderea novocainei din soluții apoase cu pH diferit în faze lipoidice, prin membrane lichide cu conținut de fosfolipide, era indicat să recurgem la un model care să întrunească anumite condiții fizico-chimice corespunzătoare celor din organism. În acest model, mediul lipoidic artificial ar fi trebuit, pe de o parte, să prezinte un anumit grad de acvofilie care să contribuie — ca și în cazul mediilor lipoidice din organism — la solubilizarea novocainei, asigurînd pătrunderea ei din apă în mediu, iar pe de altă parte, să dizolve lecitina, pentru ca aceasta din urmă, adsorbindu-se la suprafața de separație lichidă dintre mediu și apă, să ajute la formarea unei membrane oarecum corespunzătoare celor din țesuturile vii.

După o serie de încercări prealabile cu diferiți « solvenți lipoidici », ne-am oprit asupra alcoolului *izo*-amilic care dizolvă o cantitate oarecare de apă, solubilizează în cantitate suficientă atît novocaina cît și lecitina și, totodată, formează o fază lipoidică ușor separabilă de mediul apos.

Am cercetat întîi pătrunderea novocainei din soluții apoase de concentrații diferite în alcool *izo*-amilic, în absența și în prezența lecitinei, pentru a stabili, prin comparație, dacă lecitina exercită vreo acțiune asupra acestui proces, iar apoi am urmărit același fenomen folosind soluții apoase de novocaină, acidulate și alcalinizate, pentru a stabili rolul pH-ului.

În acest scop, am făcut să treacă, sub formă de picături, o soluție de clorhidrat de novocaină în apă saturată cu alcool *izo*-amilic printr-un strat de alcool *izo*-amilic saturat cu apă și aflat în biureta aparatului descris în lucrările anterioare [14], [15], [16] și [17]. Novocaina difuza din « faza apoasă » a picăturilor în « faza lipoidică », adică în alcool *izo*-amilic, traversînd membrana lichidă ce înconjura picăturile.

Cum viteza de difuzie a novocainei prin această membrană lichidă variază atît în funcție de temperatură, cît și în funcție de mărimea totală a suprafeței, adică de numărul de picături trecute prin stratul de alcool *izo*-amilic, era necesar să se efectueze experiențele la temperatură constantă, trecînd de fiecare dată același număr de picături de soluție, în același interval de timp, prin stratul de alcool *izo*-amilic de aceeași grosime. Dozînd novocaina în soluție apoasă, înainte și după ce a traversat sub formă de picături alcoolul *izo*-amilic, s-a putut stabili cantitatea de novocaină difuzată în alcool.

Dozările novocainei le-am efectuat după metoda W. Oelssner [18] și anume: la 0,5 cm³ soluție de clorhidrat de novocaină 0,0500 g $^0/_{00}$ adăugam 2,5 cm³ apă acidulată cu acid clorhidric pînă se ajungea la pH = 1,7 — 2,6 și 0,3 cm³ soluție azotit de sodiu 0,1 g %. După 6 minute adăugam 0,3 cm³ soluție acid sulfamic 0,4 g % și agitam un minut. După agitare, puneam 1,8 cm³ soluție de α — naftilamină 0,1 g % și după 15 minute colorimetram la fotoelectrocolorimetru tip « F.EK-M », în cuve cu lățimea de 1 cm, folosind filtrele verzi.

De fiecare dată am trecut prin cîte 20 cm³ alcool *izo*-amilic, care formau în biureta aparatului un strat de 19,5 cm înălțime, cîte 23,6 + 1,4 cm³ soluție apoasă de clorhidrat de novocaină, cantitate ce picura prin alcool în decurs de 30 de minute, picăturile succedîndu-se la interval de circa 3 secunde.

Lucrînd la temperatura camerei, unele oscilații de temperatură, de la o zi la alta, erau inevitabile. Aceste oscilații se repercutau asupra volumului soluției de novocaină care se scurgea în decursul fiecărei determinări din rezervor în

biuretă. Totuşi variaţiile de volum nu au fost mari, mai ales în cazul experienţelor efectuate la temperaturi apropiate.

Pentru a cerceta pătrunderea novocainei din soluţia apoasă în alcool *izo*-amilic, atît în absenţa cît şi în prezenţa lecitinei, am efectuat o serie de determinări cu soluţii de clorhidrat de novocaină, de concentraţii 0,1500 g $^0/_{00}$ şi 0,0500 g $^0/_{00}$; soluţii preparate cu apă distilată saturată cu alcool *izo*-amilic. Alcoolul *izo*-amilic care servea ca «fază lipoidică» se satura şi el în prealabil cu apă, iar în cazul experienţelor cu lecitină i se adăuga lecitină în proporţie de 1 g %.

Din determinările făcute (tabloul nr. 1), rezultă că pătrunderea novocainei din apă în alcool *izo*-amilic, în condiţiile în care am lucrat, creşte cu concentraţia

Tabloul nr. 1

Pătrunderea novocainei din apă în alcool *izo*-amilic în prezenţa şi absenţa lecitinei 1 %

Concentraţia aproximativă a novocainei exprimată în grame la litru în experienţele A şi B: 0,0500 g $^0/_{00}$, respectiv 0,1500 g $^0/_{00}$

Volumul soluţiei apoase de novocaină care a trecut prin alcool *izo*-amilic în decurs de 30 de minute, în experienţele A şi B: 23 cm³, respectiv 24,5 cm³

Temperatura la care s-au efectuat experienţele A şi B: 22°, respectiv 25°

Experienţa	Condiţiile experimentale	Cantitatea de novocaină exprimată în γ, aflată în 23 cm³, respectiv 24,5 cm³		Cantitatea de novocaină difuzată din apă în alcool *izo*-amilic, exprimată în γ clor hidrat	
		Experienţa 1	Experienţa 2	Experienţa 1	Experienţa 2
A	Înainte de experienţă	1 178	1 116	—	—
	După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic	1 063	1 012	115	104
	După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 1 g % lecitină	1 001	950	177	166
B	Înainte de experienţă	3 565	3 565	—	—
	După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic	3 344	3 381	221	184
	După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 1 g % lecitină	3 300	3 322	265	243

novocainei în soluţie apoasă, însă această creştere nu este proporţională cu concentraţia. Într-adevăr, mărind concentraţia de novocaină în soluţie apoasă de 3 ori, se obţine numai dublarea cantităţii substanţei ce trece în alcool *izo*-amilic (din soluţia apoasă 0,0500 g $^0/_{00}$ trec în alcool *izo*-amilic 115 γ, respectiv 104 γ, iar din soluţie apoasă 0,1500 g $^0/_{00}$ trec în alcool *izo*-amilic 221 γ, respectiv 184 γ). Lecitina uşurează considerabil această trecere şi anume, cu aproximativ 50—60 % în cazul cînd novocaina este în concentraţie 0,0500 g $^0/_{00}$ (difuzează 177 γ, respectiv 166 γ de novocaină în loc de 115 γ, respectiv 104 γ) şi cu aproximativ 20—30 % în cazul cînd novocaina este în concentraţie 0,1500 g $^0/_{00}$

(difuzează 265 γ, respectiv 243 γ de novocaină în loc de 221 γ, respectiv 184 γ).

Dat fiind faptul constatat că lecitina uşurează trecerea novocainei prin membrana lichidă ce separă alcoolul *izo*-amilic de apă, am efectuat cîteva determinări cu soluţii de lecitină de concentraţii diferite şi anume: 0,2 g %, 0,5 g %, 1,0 g % şi 1,5 g %, pentru a afla cum variază acest fenomen în funcţie de concentraţia lecitinei.

Rezultatele obţinute (tabloul nr. 2) arată că pătrunderea novocainei din apă în alcool *izo*-amilic se face cu atît mai intens cu cît concentraţia lecitinei

Tabloul nr. 2

Acţiunea diferitelor concentraţii de lecitină asupra pătrunderii novocainei din apă în alcool *izo*-amilic

Concentraţia aproximativă a soluţie de novocaină: 0,05 g ‰ — Volumul soluţiei de novocaină care a trecut prin alcool *izo*-amilic: 23 cm³

Temperatura: 22°

Condiţiile experimentale	Cantitatea de novocaină exprimată în γ clorhidrat, aflată în 23 cm³			Cantitatea de novocaină pătrunsă în alcool *izo*-amilic, exprimată în γ clorhidrat		
	Experienţa 1	Experienţa 2	Experienţa 3	Experienţa 1	Experienţa 2	Experienţa 3
Înainte de experienţă	1 116	1 150	1 178	—	—	—
După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic	1 012	1 051	1 063	104	99	115
După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 0,2 g % lecitină	1 012	—	—	104	—	—
După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 0,5 g % lecitină	—	1 024	1 028	—	126	150
După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 1,0 g % lecitină	950	994	1 001	166	156	177
După trecerea soluţiei de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 1,5 g % lecitină	—	—	973	—	—	205

în alcool *izo*-amilic este mai mare. Astfel, în prezenţa lecitinei în concentraţie 1,5 g %, cantitatea novocainei care trece, în condiţiile experienţelor noastre, în alcool *izo*-amilic, practic se dublează (205 γ în loc de 115 γ).

În sfîrşit am trecut la cercetarea pătrunderii novocainei din soluţie apoasă de pH diferit în alcool *izo*-amilic, atît în absenţa cît şi în prezenţa lecitinei. În acest scop în afara soluţiei de clorhidrat de novocaină în apă, soluţie care ca atare are pH în jur de 5, am lucrat cu o soluţie de novocaină acidulată cu acid clorhidric pînă în pH aproximativ 2 şi cu o soluţie de novocaină alcalinizată cu hidroxid de sodiu pînă la pH aproximativ 11. În toate cazurile am întrebuinţat novocaina în concentraţie de 0,0500 g ‰ şi lecitină în concentraţie de 1 g %.

Am constatat (tabloul nr. 3) că acidularea soluției de novocaină la pH aproximativ 2, în condițiile în care am lucrat face ca pătrunderea novocainei din apă în alcool *izo*-amilic să înceteze, indiferent de faptul că alcoolul conține sau nu conține lecitină. În schimb, alcalinizarea soluției de novocaină la pH aproximativ 11, mărește pătrunderea acestei substanțe din apă în alcool *izo*-amilic într-atît, încît aproape 1/3 din novocaina folosită într-o determinare trece în stratul de alcool (437 γ, respectiv 422 γ din 1 250 γ, respectiv 1 255 γ). Efectul acesta iese și mai bine în evidență dacă se compară datele corespunzătoare din tabloul nr. 3 și tabloul nr. 1 (în cazul alcalinizării pătrund în alcoolul *izo*-amilic 437 γ, respectiv 422 γ, pe cînd aproape în aceleași condiții, dar din soluții nealcalinizate pătrund 115 γ, respectiv 104 γ). Adaosul de lecitină la alcool, în experiențele cu soluții alcalinizate de novocaină, nu modifică mersul fenomenului, adică novocaina pătrunde din apă în alcoolul *izo*-amilic practic în aceeași cantitate (437 γ, respectiv 422 γ novocaina în absența lecitinei și 412 γ, respectiv 415 γ în prezența lecitinei). În cursul acestor experiențe, soluția de lecitină în alcool *izo*-amilic se tulbură. Se constată deci o diferență în ceea ce privește acțiunea lecitinei asupra pătrunderii novocainei prin membrana lichidă apă-alcool *izo*-amilic, și anume: pe cînd la soluția de clorhidrat de novocaină ca atare, prezența lecitinei în stratul de alcool ușurează procesul de penetrație, în cazul soluțiilor atît acidulate cît și alcalinizate, prezența lecitinei nu schimbă comportarea membranei lichide amintite față de acest anestezic local.

Tabloul nr. 3

Pătrunderea novocainei din soluții acidulate și alcalinizate în alcool *izo*-amilic, în absența și în prezența lecitinei 1 g %

Concentrația aproximativă a novocainei, exprimată în grame clorhidrat: 0,0500 g ‰; pH-ul mediului în experiențele A și B: 2, respectiv 11

Volumul soluției apoase de novocaină care a trecut prin alcool *izo*-amilic în experiențele A și B: 23 cm³, respectiv 26 cm³

Temperatura la care s-au efectuat experiențele A și B: 22°, respectiv 25°

Experiența	Condițiile experimentale	Cantitatea de clorhidrat de novocaină exprimată în γ aflată în 23 cm³, respectiv 26 cm³		Cantitatea de novocaină difuzată din apă în alcool *izo*-amilic, exprimată în γ clorhidrat	
		Experiența 1	Experiența 2	Experiența 1	Experiența 2
A	Înainte de experiență	1 081	1 086	—	—
	După trecerea soluției de novocaină prin alcool *izo*-amilic	1 086	1 104	nu pătrunde	
	După trecerea soluției de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 1 g% lecitină	1 093	1 106	nu pătrunde	
B	Înainte de experiență	1 250	1 255	—	—
	După trecerea soluției de novocaină prin alcool *izo*-amilic	813	833	437	422
	După trecerea soluției de novocaină prin alcool *izo*-amilic cu 1 g % lecitină	838	840	412	415

Este de menţionat că dozările novocainei în soluţii puternic alcalinizate, care au traversat stratul de alcool *izo*-amilic încărcat cu lecitină, întîmpină unele dificultăţi deoarece aceste soluţii devin galbene şi se tulbură cînd se adaugă acidul sulfamic. De aceea în cazul acesta am folosit pentru colorimetrare, ca soluţie de comparat, în loc de apă saturată cu alcool *izo*-amilic, o soluţie cu aceeaşi compoziţie ca şi soluţia de analizat, fără însă a i se adăuga α-naftilamina. Această soluţie prezintă practic, aceeaşi turbiditate ca şi soluţia de analizat şi permite obţinerea unor rezultate analitice oarecum comparabile.

Rezultatele de mai sus, obţinute *in vitro*, după care mediul acid îngreunează, iar mediul alcalin uşurează pătrunderea novocainei din apă într-o fază lipoidică (alcool *izo*-amilic), puse alături de datele obţinute *in vivo*, de J. Régnier, după care efectul unor anestezici locali este slab în mediul acid şi puternic în mediul alcalin [1], pledează în favoarea ipotezei că novocaina acţionează asupra organismului în urma pătrunderii ei în formaţiunile lipoidice.

Faptul că în experienţele noastre lecitina dizolvată în faza lipoidică (acool *izo*-amilic) uşurează pătrunderea novocainei din apă în această fază, atunci cînd pH-ul soluţiei apoase este apropiat de mediul neutru, sugerează ideea că şi lecitina din fazele lipoidice din organism ar putea exercita eventual o acţiune asemănătoare, favorizînd astfel procesul de anestezie. Această acţiune a lecitinei pare a fi cu atît mai interesantă, cu cît cercetările anterioare asupra difuziei acidului acetic prin membrana lichidă toluen-apă [16], au arătat că prezenţa cantităţilor mici de colesterol, alcool cetilic şi acid stearic în toluen, încetineşte difuzia acidului acetic din toluen în apă, adică exercită un efect contrariu celui constatat de noi în cazul difuziei novocainei prin membrana lichidă apă-alcool *izo*-amilic cu lecitină.

Materialul experimental din această lucrare, nu ne permite să explicăm deocamdată efectul accelerator pe care îl exercită lecitina asupra pătrunderii novocainei din apă în alcool *izo*-amilic, în condiţiile menţionate mai sus. Se pare, totuşi, că în cadrul acestui efect intervine interacţiunea fizico-chimică dintre moleculele de lecitină cuprinse în membrana lichidă şi moleculele, respectiv cationii novocainei din soluţia apoasă.

Este evident că cercetările noastre executate *in vitro*, nu pot fi extinse fără precauţii asupra fenomenelor care au loc în organism. Totuşi, ele aruncă o anumită lumină asupra rolului important pe care îl pot juca fosfolipidele din membranele lipo-apoase, respectiv lipo-proteice, nu numai în procesul de pătrundere al anesteziciloor locali în formaţiunile lipoidice din organsim, deci în procesul anesteziei, dar şi în cazul pătrunderii altor substanţe.

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.,
Bucureşti

Lucrare prezentată la redacţie la 6 ianuarie 1956

ВЛИЯНИЕ ЛЕЦИТИНА НА ПРОНИКНОВЕНИЕ НОВОКАИНА ЧЕРЕЗ ОБРАЗУЮЩУЮСЯ МЕЖДУ ВОДОЙ И ИЗОАМИЛОВЫМ СПИРТОМ ЖИДКУЮ ПЛЕНКУ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторы исследовали in vitro при помощи «капельного метода» проникновение новокаина из водного его раствора различных концентраций в изоамиловый спирт в присутствии и отсутствии лецитина, для того

чтобы выяснить путем сравнения, влияет ли лецитин на этот процесс; далее авторы проследили то же явление в водных растворах новокаина, подкисленных или подщелоченных, для установления влияния pH. Было констатировано, что проникновение новокаина из воды в изоамиловый спирт увеличивается одновременно с повышением концентрации водного раствора новокаина, но не пропорционально концентрации. Лецитин значительно облегчает проникновение новокаина, увеличивающееся тем больше, чем больше концентрация лецитина в изоамиловом спирте. Подкисленные растворы новокаина до значения pH, приблизительно равного 2, замедляют проникновение новокаина из воды в изоамиловый спирт, независимо от того, содержит ли спирт лецитин или не содержит. Подщелачивание же раствора новокаина до значения pH, приблизительно равного 11, значительно увеличивает его проникновение из воды в изоамиловый спирт, причем добавление лецитина не изменяет хода явления.

Вышеуказанные результаты, сопоставленные с данными, полученными in vivo Ж. Ренье, согласно которым действие некоторых местных анестетиков слабее в кислой среде и сильнее в щелочной, подтверждают справедливость предположения, что действие новокаина на организм является результатом проникновения его в липоидные образования.

INFLUENCE DE LA LÉCITHINE SUR LA PÉNÉTRATION DE LA NOVOCAÏNE À TRAVERS LA MEMBRANE LIQUIDE EAU-ALCOOL *ISO*-AMYLIQUE

(RÉSUMÉ)

Les Auteurs ont étudié *in vitro*, à l'aide de la « méthode des gouttes », la pénétration dans l'alcool *iso*-amylique de la novocaïne des solutions aqueuses de diverses concentrations, en l'absence et en présence de la lécithine, afin d'établir, d'une manière comparée, l'influence que cette dernière exercerait sur le phénomène en question. Ils ont étudié ensuite ce même phénomène, en utilisant des solutions aqueuses de novocaïne, acidulées et alcalinisées, dans le but d'établir le rôle du pH. Ils ont constaté que le pouvoir de pénétration de la novocaïne de l'eau dans l'alcool *iso*-amylique, augmente avec la concentration de la novocaïne en solution aqueuse, mais que cette augmentation n'est pas proportionnelle à la concentration. La lécithine favorise notablement cette pénétration, d'autant plus que sa concentration dans l'alcool est élevée. L'acidulation de la solution de novocaïne, jusqu'à pH = 2, environ, a pour effet d'arrêter la pénétration de la novocaïne de l'eau dans l'alcool *iso*-amylique. indifféremment de l'absence ou de la présence de lécithine dans l'alcool. En échange, l'alcalinisation de la solution de novocaïne, jusqu'à pH = 11, environ, augmente considérablement le pouvoir de pénétration de cette substance, de l'eau dans l'alcool *iso*-amylique ; l'addition de lécithine ne modifie en rien la marche du phénomène.

Les résultats exposés ci-dessus corroborent les données obtenues *in vivo* par J. Régnier, qui a constaté que l'effet de certains anesthésiques locaux est faible en milieu acide et puissant en milieu alcalin. Ils plaident en faveur de l'hypothèse que la novocaïne agit sur l'organisme par suite de sa pénétration dans les formations lipoïdiques.

BIBLIOGRAFIE

1. S. Lambin, S. Bazin, *Colloques internationaux du centre national de la recherche scientifique. Mécanisme de la narcose.* Paris, 1951. Anesthésie locale et propriétés physico-chimiques des sels d'alcaloïdes.
2. J. Régnier, M. Arditi, S. Bazin, S. Chantereau, *Détermination, par mesures de conductibilité, des coefficients d'ionisation et des constantes de dissociation de divers sels de p-aminobenzoyldiethylaminoéthanol.* C.R. Soc. Biol., **135**, 1505 (1941).
3. J. Régnier, S. Bazin, R. Berger, *Etude de la dissociation ionique de divers anesthésiques locaux et des bases de ces anesthésiques.* C.R. Soc. Biol., **135**, 1508 (1941).
4. J. Régnier, P. Gérard, A. Quevauviller, *Etude comparative des solubilités de différants sels de p-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol.* C.R. Soc. Biol., **136**, 484 (1942).
5. J. Régnier, R. David, P. Vertadier, *Tensions interfaciales, à la surface de séparation eau-huile d'olive, de solutions aqueuses de divers sels de p-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol.* Ann. Pharm. franc., **2**, 144 (1944).
6. J. Adriani, *The Chemistry of Anesthesia.* Oxford, 1946, 147, 389, 393.
7. J. Régnier, A. Quevauviller, A. Fieyre, *Passage à travers une membrane (cellophane) de différents sels du p-aminobénzoyldiéthylaminoéthanol. Influence de la durée de l'expérience et de la concentration saline sur le passage du chlorhydrate.* C. R. Soc. Biol., **132**, 252 (1939).
8. — *Passage à travers une membrane inerte (cellophane) des sels du p-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol. Influence de l'addition de NaCl, de la variation du pH, de celle de la température et de celle de l'épaisseur de la membrane sur le passage du chlorhydrate.* C.R. Soc. Biol., **132**, 399 (1939).
9. — *Passage à travers une membrane inerte (cellophane) de sels de p-aminobenzoyldiéthylaminoéthanol. Influence de l'acide combiné à la base.* C. R. Soc. Biol., **132**, 402 (1939).
10. — *Passage à travers une membrane inerte (cellophane) à partir de chlorhydrates, de diverses bases anesthésiques locales.* C.R. Soc. Biol., **132**, 457 (1939).
11. V. A. Kostitzin, *Sur le passage du clorhydrate de novocaïne à travers une membrane inerte (cellophane).* C.R. Soc. biol., **211**, 353 (1940).
12. J. H. Weatherby, Ph. D. Richmond, *The Artificial Phospholipid Membrane, Semipermeability, and the Bloodbrain Barrier.* J. Lab. Clin. Med., **28**, 1017 (1943).
13. J. H. Weatherby, *Permeability of the Artificial Phospholipid Membrane.* J. Cellular Comp. Physiol., **33**, 333 (1949).
13. E. Macovschi, *O metodă nouă (metoda picăturilor) pentru cercetarea permeabilităţii membranelor lichide.* Bul. ştiinţ., Acad. R.P.R. Secţiunea de ştiinţe biologice, agronomice, geologice şi geografice, **III**, 2, 229 (1951).
15. — *Cîteva consideraţii teoretice în legătură cu « Metoda picăturilor » pentru cercetarea permeabilităţii membranelor lichide.* Comunicările Acad. R.P.R., **II**, 2, 137 (1952).
16. E. Macovschi, C. Iordache, *Difuzia acidului acetic prin membrana lichidă toluen-apă şi acţiunea unora dintre componentele nesaponifiabilului lipoizilor naturali asupra acestei difuzii.* Comunicările Acad. R.P.R., **I**, 5, 1 (1951).
17. C. Iordache, *Aplicarea metodei picăturilor la cercetarea difuziei acidului acetic prin membrana lichidă toluen-apă.* Acad. R.P.R., Studii şi cercetări de chimie, **I**, 1—2, 51 (1953).
18. W. Oelssner, *Über die quantitative kolorimetrische Bestimmung von p-aminobenzoyldiätylaminoäthanol-Hydrochlorid und p-aminobenzoesäure.* Die Pharmazie, 3, 133 (1952).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

ACŢIUNEA ANTITUBERCULOASĂ A ACIZILOR *P*-AMINO-*O*-HALOGENOBENZHIDROXAMICI *)

DE

C. V. GHEORGHIU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

LEONIA STOICESCU-CRIVETZ şi LAURA MĂNDĂŞESCU

În lucrările anterioare am studiat influenţa produsă de modificările grupei aminice din acizii *p*-amino-*o*-halogeno (resp. hidroxi)-benzoici asupra acţiunii antituberculoase.

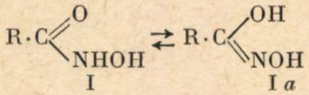
Făcînd să reacţioneze acizii de mai sus cu isosulfocianţi, se formează derivaţi de tiouree care au acţiune antituberculoasă ceva mai mică decît PAS, dar de acelaşi ordin de mărime cu conteben [1]. W. Aumüller şi colaboratori [2], cercetînd ulterior acţiunea tioureelor obţinute din isosulfocianaţi şi PAS, confirmă rezultatele obţinute de noi.

De asemenea s-a constatat că şi o serie de coloranţi azoici derivaţi din acizii de mai sus, cît şi din PAS, au cam aceeaşi activitate antituberculoasă ca şi substanţele de plecare [3].

În ceea ce priveşte activitatea anilelor formate din aceiaşi acizi cu aldehide aromatice, depinde de natura aldehidei, fiind în unele cazuri de acelaşi ordin de mărime cu aceea a acizilor de bază, alteori mai mică şi anume cînd aldehida pusă în libertate prin scindarea anilului, poate juca rol de factor de creştere pentru bacterii, cum ar fi aldehida *p*-dimetilaminobenzoică [4].

În continuare, ne-am propus să cercetăm influenţa modificărilor aduse grupării carboxilice din acizii *p*-amino-*o*-halogenobenzoici asupra acţiunii antituberculoase. În acest scop am preparat esterii metilici, acizii hidroxamici şi hidrazidele acizilor de mai sus, precum şi hidrazonele obţinute din condensarea hidrazidelor cu o serie de aldehide aromatice. În Nota de faţă vom expune rezultatele obţinute cu acizii hidroxamici.

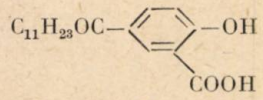
Acizii hidroxamici (I), sub formă tautomeră hidroximică (I *a*), derivă din acizii carbonici prin înlocuirea oxigenului din carboxil cu grupa oximică (= NOH); or, s-a constatat de mult că unele oxime au acţiune antibacteriană.



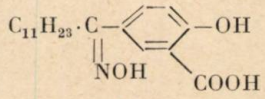
I I *a*

*) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R., din 30 iunie 1955.

Mai recent H. Bretschneider şi H. Haas [5] preparînd oxima acidului lauroil-salicilic (II *a*) constată o sensibilă creştere a activităţii antituberculoase faţă de acidul iniţial (II)



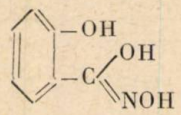
II



II *a*

Ne-am putea aştepta ca şi acizii hidroxamici (forma tautomeră hidroximică) proveniţi din acizii *p*-amino-*o*-halogenobenzoici, substanţe care manifestă o acţiune antituberculoasă remarcabilă, să aibă o activitate mai mare decît acizii de plecare. Într-adevăr, între timp a apărut o Notă a lui T. Urbanski [6], în care arată că acidul salicil-hidroxamic (III) este un agent antituberculos.

Prepararea acizilor hidroxamici prezintă multe dificultăţi. Metoda indicată de A. Jeanrenaud [7], pentru obţinerea acidului salicilhidroxamic din

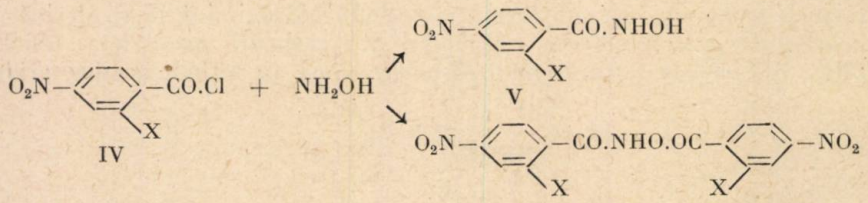


III

ester cu clorhidrat de hidroxilamină, în soluţie de 10 % hidroxid de sodiu nu reuşeşte în cazul nostru, esterii acizilor amino-halogenobenzoici fiind insolubili în soluţie alcalină. Nici reacţia cu hidroxilamină liberă, în alcool absolut (după indicaţia lui L. Gattermann [8] pentru acidul benzsulfhidroxamic) nu ne-a condus la rezultatele dorite. Am încercat să oxidăm cu apă oxigenată oximele aldehidelor *p*-amino-*o*-halogenobenzoice după G. Oddo şi E. Deleo [9], metodă care îşi are originea în reacţia lui A. Angeli, T. Angelico şi F. Rimini [10], pentru caracterizarea aldehidelor. Deşi aldehidele corespunzătoare acizilor noştri sînt greu accesibile, totuşi am încercat metoda de mai sus, însă oxidarea nu a reuşit. Ne-am gîndit apoi la metoda mai veche a lui W. Lossen [11], care constă în acţiunea hidroxilaminei asupra clorurilor acide, cu toate dezavantajele pe care le prezintă această metodă.

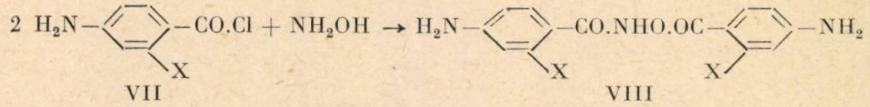
Într-adevăr, obţinerea clorurilor acide cu ajutorul pentaclorurii de fosfor nu ne-a dus la rezultate satisfăcătoare. Avînd la dispoziţie clorura de tionil, am preparat clorurile acizilor *p*-nitro şi *p*-amino-*o*-halogenobenzoici după metoda H. Meyer [12] cu randamente bune.

Prin tratarea clorurilor acizilor *p*-nitro-*o*-halogenobenzoici (IV) cu hidroxilamină, în soluţie alcalină, se formează acizii hidroxamici corespunzători (V), cît şi acizii di(*p*-nitro-*o*-halogenobenz)-hidroxamici (VI):



IV V VI

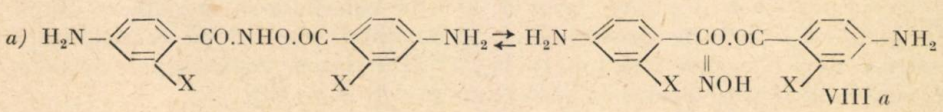
iar din acizii aminici (VII) numai acizi di(*p*-amino-*o*-halogenobenz)-hidroxamici (VIII):



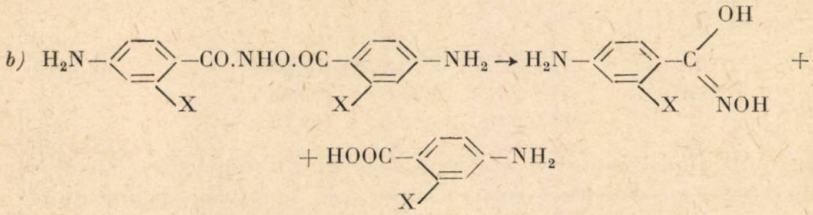
VII VIII

În ceea ce privește acțiunea antituberculoasă a acizilor *p*-nitro-*o*-halogenobenzhidroxamici (V) și di(*p*-nitro-*o*-halogenobenz)-hidroxamici (VI), încercările biologice preliminare *in vitro* au arătat că acești acizi nu au acțiune antituberculoasă, ca de altfel și acizii nitrobenzoici de la care s-a plecat. Acizii di(*p*-amino-*o*-halogenobenz)-hidroxamici (VIII) manifestă o acțiune bacteriostatică față de bacilii lui Koch în concentrație moleculară de 1.10^{-5} —5.10^{-6} la litru, aproape de 100 de ori mai mare decît aceea a acidului salicilhidroxamic (conc. limită 10^{-3} mol/l) studiat de U r b a n s k i.

Foarte probabil că acizii dibenzhidroxamici își manifestă acțiunea antituberculoasă după o prealabilă isomerizare în acizi dibenzhidroximici (VIII *a*), care în organism suferă o scindare hidrolitică în acizi benzhidroximici și aminohalogenobenzoici:



VIII *a*



Deși acidul salicilhidroxamic are *in vitro* o acțiune mai mică decît acizii di-aminohalogenobenzhidroxamici, totuși U r b a n s k i a găsit că acidul studiat de el are un indice chimioterapeutic relativ favorabil, în încercările făcute cu șoareci albi, doza curativă fiind de 12 ori mai mică decît cea toxică, ceea ce ne dă speranțe pentru derivații obținuți de noi.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. Clorura acidului *p*-nitro-*o*-clorbenzoic (IV, X = Cl)

Într-un balon de 250 cm³ se pun 5 g acid *p*-nitro-*o*-clorbenzoic perfect uscat (preparat după C. V. G h e o r g h i u și colaboratori [13]) împreună cu de 5 ori cantitatea de clorură de tionil. Balonul este pus în legătură, printr-un tub îndoit care formează un refrigerent ascendent, cu un alt balon, evitîndu-se dopurile și legăturile de cauciuc. Aparatul a fost construit după indicațiile lui H. M e y e r [12]. Se încălzește treptat prima oră la 50—60°, apoi la 70°. Pe măsură ce reacția are loc, substanța se dizolvă în clorură de tionil. La sfîrșitul operației, care durează 2—3 ore, se încălzește la 100°, pentru ca excesul de clorură de tionil, neintrat în reacție, să distile. Se face apoi o

distilare la presiune redusă (34 mm) culegîndu-se la 182° un lichid slab colorat în galben, care fumegă în aer, $n_D^{20} = 1{,}5916$. La păstrare se descompune. Randament 3,5 g.

Analiza: pentru $C_7H_3O_3NCl_2$

Calculat:	Cl	16,13	
Găsit:		15,50	15,79

În mod analog s-a preparat şi *clorura acidului p-nitro-o-brom-benzoic*. Lichid slab colorat în galben, distilă la 200°, presiunea 38 mm.

Analiza: pentru $C_7H_3O_3NClBr$

Calculat:	Cl	13,42	
Găsit:		14,50;	14,32

2. Acidul *p*-nitro-*o*-clorbenzhidroxamic (V, X = Cl) şi acidul di(*p*-nitro-*o*-clorbenz)-hidroxamic (VI)

Clorura acidului *p*-nitro-*o*-clorbenzoic (5 g) se toarnă picătură cu picătură peste o soluţie alcalină de hidroxilamină (2 g $NH_2OH.HCl$) agitînd continuu. Are loc o puternică degajare gazoasă, soluţia colorîndu-se în galben. După puţin timp se separă un produs solid, slab gălbui, care, după recristalizare din alcool, devine incolor şi se topeşte la 160°. Din datele analitice acest produs este acidul di(*p*-nitro-*o*-clorbenz)-hidroxamic (VI, X = Cl).

Analiza: pentru $C_{14}H_7O_7N_3Cl_2$

Calculat:	C	42,10	H	1,75	N	10,50
Găsit:		41,80		1,71		10,82
		41,92		1,78		11,13

Soluţia obţinută după separarea acidului dibenzhidraxomic dă o coloraţie roşu-violetă puternică, cu clorura ferică, reacţie caracteristică acizilor hidroxamici. Cu săruri de cupru formează un precipitat verde ca iarba.

Separarea acidului hidroxamic din soluţie se face prin intermediul sării complexe de cupru [14]. Pentru aceasta se acidulează slab soluţia cu acid acetic, adăugîndu-se acetat de cupru în soluţie apoasă. Se formează imediat un precipitat de culoare verde închis, care se separă după cîteva ore, se usucă şi apoi se descompune cu acid clorhidric diluat. Acidul hidroxamic se separă sub formă cristalină incoloră, soluţia rămînînd verde.

După filtrare, din soluţie se mai extrage cu eter o mică porţiune din acidul hidroxamic. După recristalizare din alcool se prezintă în cristali incolori, fuzibili la 172°. Substanţa este uşor solubilă în eter, alcool la cald, insolubilă în apă. Din datele analitice şi din reacţiile amintite, produsul cu punct de fuziune 172° este acidul *p*-nitro-*o*-clorbenzhidroxamic.

Analiza: pentru $C_7H_5O_4N_2Cl$

Calculat:	C	38,80	H	2,15	N	12,93
Găsit:		39,22		2,15		12,90
		39,52		2,18		

Ambii acizi manifestă o slabă acţiune antituberculoasă *in vitro*.

3. Acidul *p*-nitro-*o*-brombenzhidroxamic (V, X = Br) și acidul di(*p*-nitro-*o*-brombenz)-hidroxamic (VI, X = Br)

Clorura acidului *p*-nitro-*o*-brombenzoic (IV, X = Br) (3,5 g), preparată în mod analog cu precedenta, se toarnă picătură cu picătură în soluția alcalină de hidroxilamină (4 g. clorhidrat), agitîndu-se energic. Soluția se încălzește puternic, separîndu-se acidul dibenzhidroxamic, care după filtrare se recristalizează din alcool. Punctul de fuziune 165°.

Analiza: pentru $C_{14}H_7O_7N_3Br_2$

Calculat:	C	34,42	H	1,43	N	8,59
Găsit:		34,41		1,43		8,92
		34,00		1,51		9,04

Soluția obținută după separarea acidului dibenz-hidroxamic se acidulează cu acid acetic pînă la pH = 6,9 și apoi se adaugă o soluție de acetat de cupru cînd se formează sarea complexă de cupru a acidului hidroxamic, de culoare verde. După filtrare, sarea se usucă și apoi se descompune cu acid clorhidric diluat. Se obține un produs incolor, care după recristalizare din alcool se topește la 154°. Ușor solubil în alcool, eter, alcali, dă coloratie roșie cu clorura ferică.

Analiza: pentru $C_7H_5O_4N_2Br$

Calculat:	C	32,20	H	1,91
Găsit:		32,59		2,07
		32,39		1,96

4. Acidul di(*p*-amino-*o*-clorbenz)-hidroxamic (VIII, X = Cl)

Într-o soluție alcalină de hidroxilamină (2g clorhidrat), se picură agitînd continuu clorura acidului *p*-amino-*o*-clorbenzoic (2 g), obținută cu ajutorul clorurii de tionil din acidul respectiv, observînd ca soluția să rămînă tot timpul alcalină. Se separă imediat un produs cristalin slab gălbui, care, după recristalizări repetate din alcool, devine incolor. Punct de fuziune 200° cu degajare gazoasă. Filtratul după adăugare de acid clorhidric diluat mai separă o nouă porțiune din același produs. Solubil în alcool fierbinte, în alcali, insolubil în apă, eter și benzen. Soluția alcoolică dă o coloratie roșie cu clorura ferică și un precipitat verde cu o soluție de acetat de cupru.

Din datele analitice rezultă că produsul fuzibil la 200° este acidul di(*p*-amino-*o*-clorbenz)-hidroxamic.

Analiza: pentru $C_7H_7O_2N_2Cl$

Calculat: C 45,05 H 3,75; N 15,05

pentru $C_{14}H_{11}O_3N_3Cl_2$

Calculat:	C	49,43	H	3,23;	N	12,33
Găsit:		48,87		3,45		12,11
		48,97		3,56		

Acest acid are acțiune antituberculoasă în concentrarea limită de 10^{-4} mol/1.

5. Acidul di(*p*-amino-*o*-brombenz)-hidroxamic (VIII, X = Br)

Se prepară în mod analog cu precedentul din clorura acidului *p*-amino-*o*-halogenobenzoic (VII, X=Br) (obţinută din acidul corespunzător) şi hidroxilamină. Cristali incolori, punct de fuziune 195°, solubil în alcool, alcali, în apă la fierbere.

Analiza: pentru $C_{14}H_{11}O_3N_3Br_2$

Calculat:	C	39,18	H	2,56
Găsit:		39,26		2,67
		38,89		2,59

Prezintă acţiune antituberculoasă în concentraţie de 10^{-5} mol/1.

6. Acidul di(*p*-amino-*o*-iodbenz)-hidroxamic (VIII, X = I)

Se formează uşor prin acţiunea clorurii acidului *p*-amino-*o*-iodbenzoic (VII, X=I) (obţinută din acidul respectiv cu clorură de tionil) ,asupra hidroxilaminei. Cristali incolori, fuzibili la 184° cu înroşire, solubili în eter, alcool şi alcali. Dă o coloraţie roşie cu clorura ferică şi un precipitat verde cu acetatul de cupru.

Analiza: pentru $C_{14}H_{11}O_3N_3I_2$

Calculat:	C	32,13	H	2,10
Găsit:		32,40		2,20

Manifestă acţiune antituberculoasă în concentraţii de $5{,}10^{-6}$ mol/1.

Încercări biologice de dr. A. T o m a

Încercările s-au făcut cu culturi B.C.G. în mediu nutritiv Sauton. Rezultatele sînt consemnate în tablou.

Substanţa	Concentraţia moleculară la litru			
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	2.10^{-6}
Acid salicilhidroxamic (Urbanski)	0	+++	+++	+++
Acid nitrobromhidroxamic (V, X = Br)	0	+++	+++	+++
Acid di (*p*-amino-*o*-clorbenz)-hidroxamic	0	+	+++	+++
Acid di (*p*-amino-*o*-brombenz)-hidroxamic	0	0	±	+++
Acid di (*p*-amino-*o*-iodbenz)-hidroxamic	0	0	0	+

0 = inhibiţie totală a culturii de B.C.G.; ±, + = inhibiţie parţială; + + + = dezvoltare completă a culturii.

Institutul de chimie, Iaşi

Prezentat la redacţie la 14 iulie 1955

ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЕ ДЕЙСТВИЕ *P*-АМИНО-*O*-ГАЛОИДБЕНЗГИДРОКСАМИНОКИСЛОТ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторы в первый раз приготовили *p*-нитро-*o*-галоидбензгидроксамино- (V) и ди-(*p*-нитро-*o*-галоидбенз) гидроксаминокислоту (VI), а также и ди-(*p*-амино-*o*-галоидбенз) гидроксаминокислоты (VIII) из соответствующих кислот хлоридов. Т. Урбанский (6) указывает, что салицилгидроксаминокислота (III) является противотуберкулезным агентом. Кислоты с нитрогруппой не обнаруживают противотуберкулезного действия, в то время как кислоты с аминогруппой в позиции пара по отношению к гидроксаминогруппе воздействуют на туберкулезные бациллы при концентрации в 10^{-5}—10^{-6} мол/л.

L'ACTION ANTITUBERCULEUSE DES ACIDES *P*-AMINO-*O*-HALOGÉNOBENZHYDROXAMIQUES

(RÉSUMÉ)

Les Auteurs préparent, pour la première fois, les acides *p*-nitro-*o*-halogénobenzhydroxamiques (V) et di(*p*-nitro-*o*-halogénobenz) hydroxamiques (VI) ainsi que les acides di(*p*-amino-*o*-halogénobenz) hydroxamiques (VIII), à partir des chlorures acides correspondants. T. Urbanski (6) a montré que l'acide salicylhydroxamique est un agent antituberculeux. Les acides *p*-nitro ne manifestent pas une action antituberculeuse, tandis que ceux qui possèdent la fonction aminique, en position para par rapport à la fonction hydroxamique, ont, *in vitro*, une action inhibitrice sur la croissance du bacille de Koch (en milieu de Sauton) à une concentration de $10^{-5} - 10^{-6}$ mol/l, supérieure à celle de l'acide salicylhydroxamique (Urbanski).

BIBLIOGRAFIE

1. C. V. Gheorghiu, L. Stoicescu-Crivetz, A. Toma, N. Constantinescu, Acad. R.P.R., Studii și cercetări științifice Iași, **II**, 182 (1951).
2. W. Aumüller, L. Horner, J. Kiming, J. Meyer Rohr, Chem. Ber., **85**, 760 (1952).
3. C. V. Gheorghiu, Leonia Stoicescu-Crivetz, Acad. R.P.R., Studii și cercetări științifice Iași, **IV**, 157 (1953)
4. C. V. Gheorghiu, L. Stoicescu-Crivetz, A. Toma, N. Constantinescu, Acad. R.P.R., (Studii și cercetări de chimie, **II**, 39 (1954).
5. H. Bretschneider, H. Haas, Monatshefte, **81**, 524 (1950).
6. T. Urbanski, Nature (1950), **166**, 267; Chem. Zentr., **1951**, **I**, 2045.
7. A. Jeanrenaud, Ber., **22**, 1283 (1889).
8. L. Gattermann, *Die Praxis des Organischen Chemikers*. Walter de Gruyter & Co., Berlin, 1939, 195.
9. G. Oddo, E. Deleo, Ber., **69**, 288 (1906).
10. A. Angeli, T. Angelico, Gaz. chim. ital., **I**, **30**, 595 (1900); F. Rimini, Atti R. Acad. Lincei, **8**, **10**, 355 (1901).
11. W. Lossen, Liebigs Ann. Chem., **161**, 347 (1872); **281**, 171 (1894).
12. H. Meyer, Monatshefte, **22**, 416 (1901).
13. C. V. Gheorghiu, L. Stoicescu-Crivetz, M. Alexa-Petrovanu, Acad. R.P.R., Studii și cercetări științifice Iași, **I**, 177 (1950).
14. G. Giamcian, P. Silber, Ber., **40**, 2422 (1907).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

ACŢIUNEA ANTITUBERCULOASĂ A UNOR TIOUREI NOI, DERIVATE DIN SULFAMIDE (V)*) ŞI ACIZI AMINICI AROMATICI (II)**)

DE

C. V. GHEORGHIU

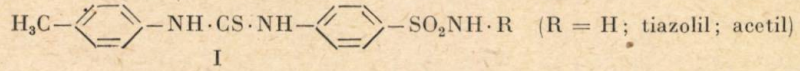
MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

C. H. BUDEANU, ELENA BUDEANU şi A. TOMA ***)

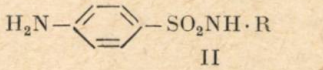
În lucrările noastre anterioare [1], [2] şi [3] am arătat că tioureele obţinute prin introducerea radicalului *p*-toliltiocarbamoil (—C. S. NH · C_6H_4 · CH_3) în sulfamide (sulfanilamida II, R = H; sulfatiazol, R = tiazolil; albucid R = acetil), făcînd să reacţioneze acestea din urmă cu isotiocianatul de *p*-tolil ($CH_3 \cdot C_6H_4 \cdot N = C = S$), manifestă o intensă activitate antituberculoasă.

Mai mult, tioureele obţinute cu acidul *p*-aminobenzoic şi acizii sulfonici au de asemenea o intensă activitate antituberculoasă, deşi acizii de plecare sînt inactivi.

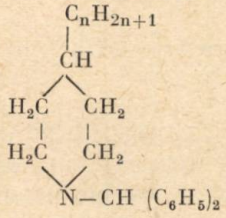
P. Truit şi N. I. Middleton [4] au arătat că N-difenilmetil-*p*-alchil-piperidinele (III) au o puternică acţiune antituberculoasă datorită radicalilor alchilici din poziţia *para* a piperidinei.



I (R = H; tiazolil; acetil)



II (R = H; tiazolil; acetil)



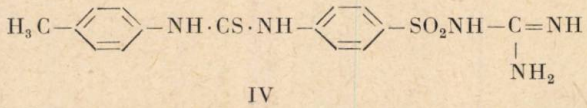
N — difenilmetil — alchil — 4 — piperidină

(n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8)

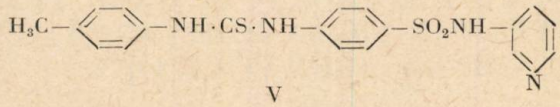
III

*) A IV-a Comunicare, Studii şi cercetări ştiinţifice Iaşi, IV, nr. 1—2 (1953).
**) I-a Comunicare, Studii şi cercetări ştiinţifice Iaşi, V, nr. 1—2 (1954).
***) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R., din 30 iunie 1955.

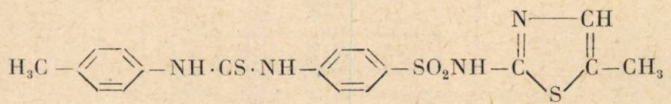
Anterior am întrebuinţat isotiocianatul de *p*-tolil pentru obţinerea tioureelor aromatice cu radicalul metil în poziţia *para* din nucleul benzenic, care nu provine din sulfamidă. În lucrarea de faţă am mai obţinut cu ajutorul acestui isosulfocianat tiourei din sulfaguanidină (IV), din sulfapiridină (V), din metilsulfatiazol (VI) şi acidul *p*-aminosalicilic (VII), substanţe care de asemenea manifestă *in vitro* o activitate destul de puternică, variind între concentraţiile moleculare 10^{-5} la 10^{-6}, în timp ce produsele de plecare, exceptînd acidul *p*-aminosalicilic (PAS) sînt aproape cu totul inactive,



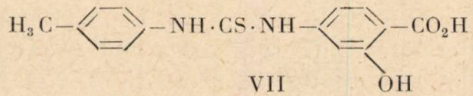
IV



V



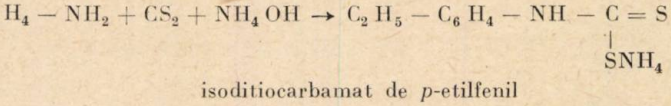
VI



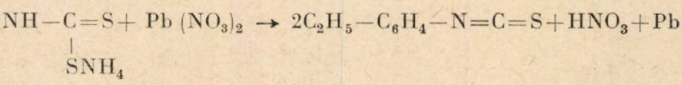
VII

Era interesant de văzut dacă şi alţi radicali alchilici pot conferi tioureelor derivate din sulfamide şi acizi aromatici acţiune antituberculoasă. Greutatea experimentală în obţinerea acestor tiourei constă în prepararea isosulfocianaţilor *p*-alchil-fenilici (excepţie isosulfocianatul de *p*-tolil), la care materialul de plecare îl formează *p*-alchilanilinele, de asemenea greu accesibile.

Isosulfocianatul de *p*-etilfenil a fost obţinut din *p*-etilanilină, după indicaţiile din *Organic Syntheses* [5] pentru isosulfocianatul de fenil, care constă în acţiunea sulfurii de carbon asupra aminei aromatice în prezenţa amoniacului. Sarea de amoniu a acidului ditiocarbamic se descompune printr-o sare solubilă de plumb.



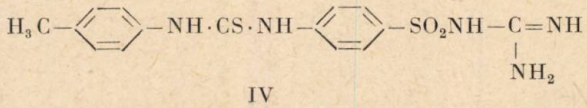
isoditiocarbamat de *p*-etilfenil



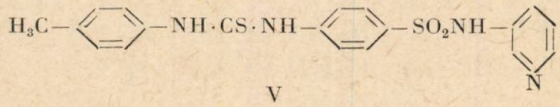
p-Etilanilina a fost sintetizată după indicaţiile lui G. Benz [6] din alcool etilic şi anilină, cu un randament mediocru din cauza lipsei unei bune autoclave; de altfel şi Benz indică un randament de 40—50%. Isosulfocianatul de *p*-butilfenil ($C_4H_9—C_6H_4—N=C=S$) a fost preparat după metoda indicată pentru isosulfocianatul precedent.

Încercînd să preparăm *p*-terţiar-butilanilina necesară isosulfocianatului de terţiar-butilfenil, după metoda dată de E. Louis [7] (din anilină, alcool

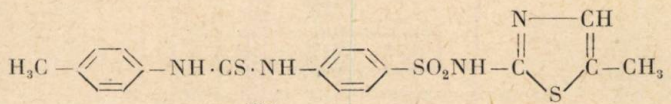
Anterior am întrebuinţat isotiocianatul de *p*-tolil pentru obţinerea tioureelor aromatice cu radicalul metil în poziţia *para* din nucleul benzenic, care nu provine din sulfamidă. În lucrarea de faţă am mai obţinut cu ajutorul acestui isosulfocianat tiourei din sulfaguanidină (IV), din sulfapiridină (V), din metilsulfatiazol (VI) şi acidul *p*-aminosalicilic (VII), substanţe care de asemenea manifestă *in vitro* o activitate destul de puternică, variind între concentraţiile moleculare 10^{-5} la 10^{-6}, în timp ce produsele de plecare, exceptînd acidul *p*-aminosalicilic (PAS) sînt aproape cu totul inactive,



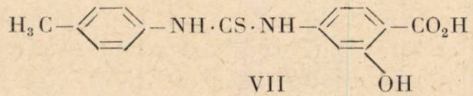
IV



V



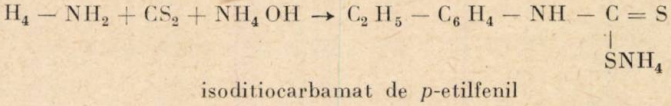
VI



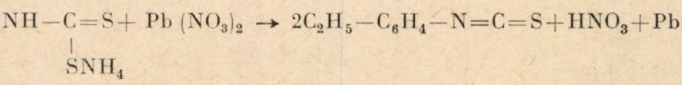
VII

Era interesant de văzut dacă şi alţi radicali alchilici pot conferi tioureelor derivate din sulfamide şi acizi aromatici acţiune antituberculoasă. Greutatea experimentală în obţinerea acestor tiourei constă în prepararea isosulfocianaţilor *p*-alchil-fenilici (excepţie isosulfocianatul de *p*-tolil), la care materialul de plecare îl formează *p*-alchilanilinele, de asemenea greu accesibile.

Isosulfocianatul de *p*-etilfenil a fost obţinut din *p*-etilanilină, după indicaţiile din *Organic Syntheses* [5] pentru isosulfocianatul de fenil, care constă în acţiunea sulfurii de carbon asupra aminei aromatice în prezenţa amoniacului. Sarea de amoniu a acidului ditiocarbamic se descompune printr-o sare solubilă de plumb.



isoditiocarbamat de *p*-etilfenil



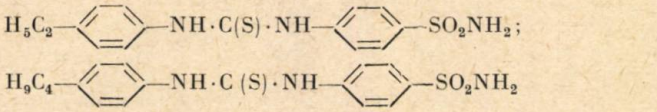
p-Etilanilina a fost sintetizată după indicaţiile lui G. Benz [6] din alcool etilic şi anilină, cu un randament mediocru din cauza lipsei unei bune autoclave; de altfel şi Benz indică un randament de 40—50%. Isosulfocianatul de *p*-butilfenil ($C_4H_9—C_6H_4—N=C=S$) a fost preparat după metoda indicată pentru isosulfocianatul precedent.

Încercînd să preparăm *p*-terţiar-butilanilina necesară isosulfocianatului de terţiar-butilfenil, după metoda dată de E. Louis [7] (din anilină, alcool

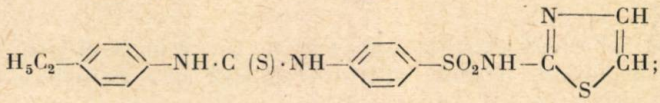
butilic terțiar și pentaoxid de fosfor), utilizată pentru *p*-isobutilanilină, am obținut numai difenilamina ($C_6H_5 - NH - C_6H_5$).

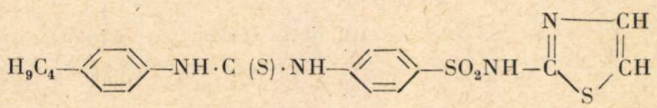
Lucrînd însă după metoda indicată pentru prepararea isosulfocianatului de *p*-etilfenil și *p*-butilfenil, am obținut isosulfocianatul de *p*-terțiar- butilfenil, însă cu un randament mediocru, din aceleași motive ca și în cazurile precedente.

Făcînd să reacționeze isosulfocianatul de *p*-etilfenil și *p*-butilfenil cu sulfanilamida și sulfatiazolul, am obținut tioureele VIII, IX, X și XI care manifestă o puternică activitate antituberculoasă *in vitro*

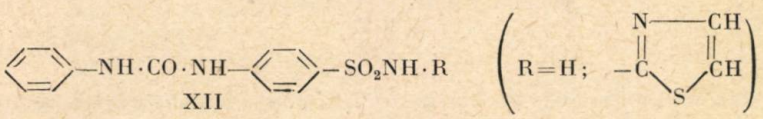

VIII

IX


X

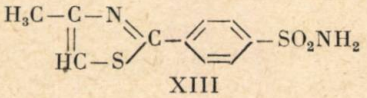

XI

O altă serie de isosulfocianați de *p*-alchilfenil sînt în lucru. Cum ureele derivate din sulfamide avînd radicalul ureil la azotul aminic (N^1) sînt substanțe cu acțiune terapeutică [8], am încercat să preparăm urei derivate din sulfanilamidă și sulfatiazol, făcînd să reacționeze acestea din urmă cu isocianatul de fenil. Ureele obținute (XII), fiind insolubile în apă sau alcalii, în condițiile experimentărilor biologice, deși sulfamidele de plecare erau solubile, nu s-a putut, pentru moment, încerca acțiunea lor antibacteriană *in vitro*

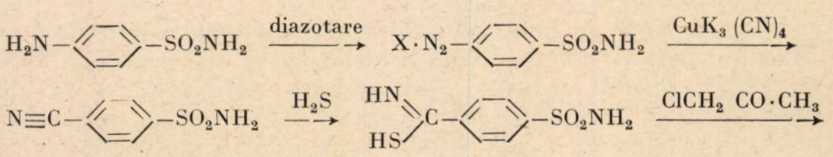

XII

Cum am amintit și altădată [2], introducerea unor substituenți la atomul de azot din grupa sulfamidică (N^1) întărește activitatea terapeutică a sulfanilamidei, pe cînd substituenții de la azotul aminic (N^4) în genere nu imprimă sulfamidei o activitate antibacteriană decît în cazul cînd pot fi scindați biologic. Noi am arătat însă că o serie de tiourei, obținute prin introducerea radicalului de *p*-toliltiocarbamoil la azotul aminic din sulfamide au o puternică activitate antituberculoasă.

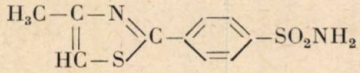
Era interesant de văzut cum se modifică acțiunea terapeutică a unei sulfamide dacă se înlocuiește chiar grupa aminică printr-un radical heterociclic. Pentru aceasta am preparat, metil-4′-tiazolil-2′-4-benzensulfonamidă (XIII) plecînd din sulfanilamidă (II, R = H). Aceasta din urmă se diazotează și prin reacția Sandmeyer se introduce grupa -CN în locul grupei aminice din *para* [9]. *p*-Nitrilobenzensulfonamida formată (XIV), cu hidrogen sulfurat trece într-o tioamidă (XV), care prin condensare cu cloracetona dă naștere la


XIII

(metil-4′-tiazolil-2′)-benzensulfonamică (XIII) *)

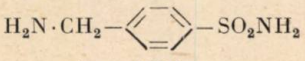


XV p-nitrilobenzensulfonamida XV diamida acidului benzen-tiolcarbonic-1-sulfonic-1 forma tautomeră)



XIII (metil-4′-tiazolil-2′)-4-benzensulfonamidă

Această sulfamidă conţinînd un rest de tiazol în locul grupei aminice din sulfanilamidă nu are acţiune antituberculoasă spre deosebire de sulfatiazol (II, R= HC—N
|| ||
HC C—
\S/
care conţine restul heterociclic la azotul amidic şi manifestă o slabă acţiune în concentrare de 10^{-3} la 10^{-4} mol/l. Deci prezenţa radicalului de tiazolil care înlocuieşte grupa aminică din sulfanilamidă nu produce nici un efect antibacterian. Se cunosc sulfamide cu acţiune antibacteriană, care nu conţin grupa aminică legată direct de nucleul benzenic în poziţia *para*, cum ar fi sulfamilona (XVI), la care această grupă este separată de nucleu printr-o grupă metilenică



XVI

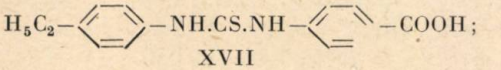
Această sulfamidă, deşi nu mai poate lucra antagonist cu factorul de creştere acidul *p*-aminobenzoic, posedă un spectru de activitate antibacteriană extrem de larg, inhibînd creşterea, sau omorînd un mare număr de bacterii patogene [10].

Obiecţia ce s-ar putea face că derivatul nostru de tiazol nu are activitate datorită faptului că nu mai posedă grupă aminică primară sau substituită credem că nu este valabilă, căci *toluen-sulfonamida* ($CH_3 \cdot C_6H_4 \cdot SO_2NH_2$), deşi nu posedă grupă aminică în nucleul benzenic, are totuşi o acţiune terapeutică în cazul infecţiilor produse de streptococi [11], probabil datorită prezenţi grupei metilice din poziţia *para* faţă de grupa sulfamidică, grupare care conferă, după cum am arătat mai înainte, o puternică activitate antituberculoasă.

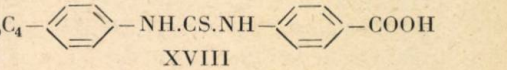
În lucrările anterioare [3] am găsit că acizii *p*-aminobenzoic sulfanilic şi naftionic, prin introducerea unui rest de *p*-toliltiocarbamoil capătă o intensă activitate antituberculoasă. Făcînd să reacţioneze isosulfocianatul de *p*-etilfenil şi *p*-butilfenil asupra acizilor *p*-aminobenzoic şi *p*-aminobenzensulfonic, am obţinut acizii *p*-etilfeniltiocarbamoil-*p*′-aminobenzoic (XVII), *p*-butilfeniltiocarbamoil-*p*′-aminobenzoic (XVIII) şi acidul *p*-etilfeniltiocarbamoil-*p*′-ami-

*) Acest compus ca derivat de tiazol se poate numi (sulfonamido-4′-fenil)-2-metil-4-tiazol.

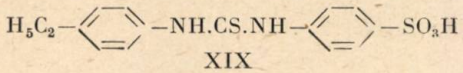
nobenzensulfonic (XIX), care manifestă de asemenea acțiune antituberculoasă



XVII



XVIII



XIX

Un studiu sistematic al influenței radicalului alchilic asupra acțiunii antituberculoase a tioureelor derivate din sulfamide și acizi aromatici îl vom face abia după ce vom reuși să preparăm o serie întreagă de isosulfocianați de *p*-alchilfenil.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. N-p-tolil-N′-p′-guanidilsulfamilfenil-tiouree (IV)

Peste o soluție alcoolică concentrată și fierbinte de 2,16 g sulfaguanidină se adaugă 1,49 g de isosulfocianat de *p*-tolil, se mai fierbe cîtva timp și se lasă să se răcească la temperatura camerei. Curînd se separă cristali incolori, prismatici, fuzibili la 189—190°. Randamentul este cantitativ.

Analiza: pentru $C_{15}H_{17}O_2N_5S_2$

Calculat:	C	49,54	H	4,71
Găsit:		49,36		4,47
		49,48		4,59

2. N-p-tolil-N′-p′βpiridilsulfamilfenil-tiouree (V)

Se prepară în mod analog. Cristali incolori, fuzibili la 196—197°.

Analiza: pentru $C_{19}H_{18}O_2N_4S_2$

Calculat:	C	57,25	H	4,55
Găsit:		57,64		4,46
		57,70		4,12

3. N-p-tolil-N′-p′-metiltiazolisulfamilfenil-tiouree (VI)

Se prepară în mod analog. Cristali incolori, fuzibili la 165—166°,

Analiza: pentru $C_{18}H_{18}O_2N_4S_3$:

Calculat:	C	51,63	H	4,33
Găsit:		51,49		4,00
		52,01		4,20

4. Acidul N-p-toliltiocarbamoil-p′-aminosalicilic (VII)

Peste o soluție acetonică concentrată de 3,06 g acid *p*-aminosalicilic se adaugă 2,98 g de isosulfocianat de *p*-tolil, se agită bine pînă la dizolvarea completă a acestuia din urmă și se lasă să stea la temperatura camerei cîteva zile.

Se evaporă apoi solventul, în care produsul de reacţie este foarte solubil, iar reziduul se ia cu alcool etilic, se filtrează şi se spală bine pe filtru. Se obţine un produs cristalin, incolor, fuzibil la 182—183°. După o uşoară încălzire în alcool, filtrare şi spălare, punctul de topire se urcă la 189—190°.

Acelaşi produs se obţine dacă se încălzeşte amestecul de PAS şi isosulfocianat de *p*-tolil, în acetonă, la 35—40°.

Analiza: pentru $C_{15}H_{14}O_3N_2S$

Calculat:	N	9,27
Găsit:		9,39
		9,66

5. N-p-etilfenil N′-p′-sulfamilfenil-tiouree (VIII)

Se prepară în mod analog cu produsul de condensare dintre isosulfocianat de *p*-tolil şi sulfanilamidă. Cristali incolori, fuzibili la 195—196°.

Analiza: pentru $C_{15}H_{17}O_2N_3S_2$

Calculat:	C	53,69	H	5,11
Găsit:		53,35		4,91
		53,80		4,85

6. N-p-butilfenil-N′-p′-sulfamilfenil-tiouree (IX)

Se prepară în mod analog cu produsul precedent. Cristali incolori, fuzibili la 195—196°.

Analiza: pentru $C_{17}H_{21}O_2N_3S_2$

Calculat:	N	11,57
Găsit:		11,92
		11,62

7. N-p-etilfenil-N′-p′-tiazolilsulfamilfenil-tiouree (X)

Se prepară în mod analog cu produsul precedent. Cristali incolori, fuzibili la 181—182° (din alcool etilic diluat).

Analiza: pentru $C_{18}H_{18}O_2N_4S_3$

Calculat:	C	51,63	H	4,34
Găsit:		51,55		4,51
		51,17		4,53

8. N-p-butilfenil-N′-p′-tiazolilsulfamilfenil-tiouree (XI)

Se prepară în mod analog cu produsul precedent. Cristali incolori, fuzibili la 194—195°.

Analiza: pentru $C_{20}H_{22}O_2N_4S_3$

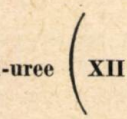
Calculat:	N	12,55
Găsit:		12,94
		12,63

9. N-p-fenil-N′-p′-sulfamilfenil-uree (XII; R = H)

Într-o eprubetă cu dop rodat se introduce o soluție benzenică concentrată de 1,72 g sulfanilamidă, peste care se adaugă o cantitate echimoleculară de isocianat de fenil și se lasă să stea la temperatura camerei. După mai multă vreme se separă un produs cristalin, fuzibil la 222° (recristalizare din alcool etilic diluat). Prisme aciculare, insolubile în eter, solubile în apă și în benzen la fierbere. Randamentul este aproape cantitativ.

Analiza: pentru $C_{13}H_{13}O_3N_3S$

Calculat:	N	14,43
Găsit:		14,46
		14,54

10. N-p-fenil-N′-p′-tiazolilsulfamilfenil-uree (XII; R = )

Se obține în mod analog dintr-o suspensie de sulfatiazol în benzen și isosulfocianat de etilfenil. Cristali incolori, fuzibili la 241° (din alcool metilic). Produsul este insolubil în apă, benzen, alcool și eter la rece; foarte greu solubil în alcool etilic și metilic la fierbere.

Analiza: pentru $C_{16}H_{14}O_3N_4S_2$

Calculat:	C	51,30;	H	3,77
Găsit:		51,88		3,82
		51,33		3,72

11. Acidul N-p-etilfeniltiocarbamoil-p′-aminobenzoic (XVII)

Pentru o soluție alcoolică concentrată și fierbinte de 1,37 g acid *p*-aminobenzoic se adaugă o cantitate echimoleculară de isotiocianat de *p*-etilfenil și se lasă să reacționeze la temperatura camerei. Peste cîteva ore se separă un produs cristalin, incolor, care după recristalizare din alcool metilic se topește la 196—198°. Randamentul este aproape cantitativ.

Analiza: pentru $C_{16}H_{16}O_2N_2S$

Calculat:	C	63,96	H	5,3
Găsit:		64,18		4,8
		63,96		5,07

12. Acidul N-p-butilfeniltiocarbamoil-p′-aminobenzoic (XVIII)

Se separă în mod analog. Cristali incolori, fuzibili la o temperatură de peste 300°.

Analiza: pentru $C_{18}H_{20}O_2N_2S$

Calculat:	N	8,54
Găsit:		8,89
		8,77

13. Diamida acidului tiol-carbonic-1-sulfonic-4 (XV)

Această diamidă a fost obținută după o metodă generală de preparare a tioamidelor [11], prin trecerea unui curent de hidrogen sulfurat printr-o soluție alcoolică de *p*-nitrilobenzen sulfonamidă saturată cu amoniac. Cristali galbeni, fuzibili la 192°.

Analiza: pentru $C_7H_8O_2N_2S_2$

Calculat:	C	39,85	H	3,72
Găsit :		39,36		3,83
		39,12		4,03

14. Metil-4′-tiazolil-2′-4-benzensulfonamida (XIII)

Într-un balonaș prevăzut cu un refrigerent ascendent, se încălzește la 80° pe baie de apă, un amestec de 3,24 g diamida acidului benzen-tiol-carbonic-1-sulfonic-4, 2 g de cloracetonă (preparată după indicațiile date de P. F r i t s c h [12]) și 40 cm³ de alcool etilic. Prin încălzire, tioamida se solvă și în scurt timp se separă un produs cristalin, care după recristalizare din alcool la fierbere se topește la 225—226°. Produsul este insolubil la rece în apă, eter, acetonă, cloroform, greu solubil în alcool metilic; se solvă la fierbere în apă, alcool, acetonă, cloroform, eter, din care cristalizează prin răcire.

Analiza: pentru $C_{10}H_{10}O_2N_2S_2$

Calculat:	C	47,23;	H	3,93
Găsit:		46,88		3,78
		47,36		3,36

Încercări biologice executate de dr. A. T o m a

Se fac întîi soluții 10^{-2} mol/l din tioureele respective, adăugîndu-se unul sau doi echivalenți de hidroxid de sodiu (tioureele nu sînt solubile în apă) și din aceste soluții se adaugă la mediul nutritiv Sauton (100 cm³) cantitatea necesară pentru a avea concentrațiile 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 5.10^{-5}, $2{,}2.10^{-6}$, $3{,}3.10^{-6}$ și 2.10^{-6} mol/l. Se repartizează în baloane Erlenmeyer conținînd mediu nutritiv. După aducere la pH = 7,2 se sterilizează în autoclavă la 120°, se însămînțează cu B.C.G. dintr-o cultură de 10 zile și se pune la termostat la 37°. Controlul culturilor se efectuează după 15—20 de zile, cînd suprafața mediului de cultură din baloanele martor se acoperă complet cu un voal gros de B.C.G.

Rezultatele sînt consemnate în tabloul următor.

Denumirea substanței	Concentrațiile moleculare						
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	5.10^{-5}	$2{,}2.10^{-6}$	$3{,}3.10^{-6}$	2.10^{-6}
1. Sulfaguanidina	+	+++	+++				
2. N-*p*-tolil-N′-p′-guanidilsulfamilfenil-tiouree	0	0	0	+++			
3. Sulfapiridina	+++	+++	+++	+++			
4. N-*p*-tolil-N′-p′-β-piridilsulfamilfenil-tiouree	0	0	0	+++			
5. Metil-sulfatiazol	±+	++	+++				
6. N-p-tolil-N′-*p*′-metiltiazolilsulfamil-fenil-tiouree	0	0	0	+++			
7. N-*p*-etilfenil-N′-*p*′-sulfamilfenil-tiouree	0	0	0	+	+	++	+++
8. N-*p*-butilfenil-N′-*p*′-sulfanilfenil-tiouree	0	0	0	±			
9. N-*p*-etilfenil-N′-*p*′-tiazolisulfamil-fenil-tiouree	0	0	0	0	0	0	
10. N-*p*-butilfenil- N′ - *p*′ - tiazolilsulfa-milfenil-tiouree	0	0	0	0	0	0	
11. Acidul *p*-aminosalicilic	0	0	0	+++			
12. Acidul N-*p*-tolil-N′-*p*′-tiocarbamoil-*p*′-aminosalicilic	0	0	0±	+++			
13. Acidul N-*p*-etilfenil-tiocarbamoil-*p*′-aminobenzoic	0	0	0	0	0	0	
14. Acidul N-*p*-butilfenil-tiocarbamoil-*p*′-aminobenzoic	0	0	0	0	0	0	0
15. Acidul N-*p*-etilfeniltiocarbamoil-*p*′-a-minobenzensulfonic	0	0	0	0	0	0±	

0 inhibiție totală a creșterii; + inhibiție aproape totală, ++ creșterea parțială; +++ creștere normală a culturii.

Laboratorul de chimie organică, Universitatea Iași,
Institutul de chimie al Aacademiei R.P.R., Filiala Iași,
Institutul de medicină Iași, laboratorul de igienă generală

Prezentată la redacție la 14 iulie 1955

ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ НОВЫХ ТИОМОЧЕВИН, ПРОИЗВОДНЫХ СУЛЬФАМИДОВ (V) И АМИНОВЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ КИСЛОТ (II)

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторы получили новый ряд тиомочевин (IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XVII, XVIII, XIX), производных сульфамидов ($NH_2—C_6H_4—SO_2NH·R$,R=H, тиазолил, метилтиазолил, пиридил, гуанидил) и аминовых ароматических кислот (*p*-аминобензойная, *p*-аминосалициловая и *p*-аминобензолсульфокислота) путем конденсирования с изосульфоцианатами *p*-толила, этилфенила и бутилфенила, а также и ряд фенилмочевин, производных сульфаниламида и сульфатиазола.

Из биологических испытаний, произведенных in vitro (в лабораторных сосудах), следует, что введение радикала алкилфенилтиокарбамоила в молекулу сульфамида или аминовой ароматической кислоты,

в позицию пара по отношению к сульфонамидной или кислой группе, сообщает этим веществам сильное противотуберкулезное действие (см. таблицу).

Заменой в сульфаниламиде аминной группы в позиции пара радикалом метилтиазолилом получают сульфаниламидо-4′-фенил-2-метил-4-тиазол (XIII), не обладающий противотуберкулезным действием, несмотря на то что сульфатиазол (II) обнаруживает слабое антитуберкулезное действие.

ACTION ANTITUBERCULEUSE DE QUELQUES THIO-URÉES NOUVELLES, DÉRIVÉES DES SULFAMIDES (V) ET DES ACIDES AMINIQUES AROMATIQUES (II)

(RÉSUMÉ)

Les Auteurs ont préparé une nouvelle série de thio-urées (IV, V, VI, VII, VIII, IX X, XI, XVII, XVIII, XIX), dérivées des sulfamides ($NH_2-C_6H_4-SO_2NH.R,R = H$: thiazolyle, métylthiazolyle, pyridyle, guanidyle) et des acides aminiques aromatiques (acide *p*-aminobenzoïque, *p*-aminosalicylique et *p*-aminobenzène-sulfonique), par condensation avec les isosulfocyanates de *p*-tolyle, éthyl-phényle et butyl-phényle, ainsi que les phényles-urées, dérivées de la sulfamide et du sulfatiazole.

Il résulte des épreuves biologiques, effectuées *in vitro*, que l'introduction d'un radical alkyl-phényl-thio-carbamoyle dans la molécule d'une sulfamide ou d'un acide aminique-aromatique, en position para à l'égard du groupement sulfonamidique ou acide, communique à ces substances une puissante action antituberculeuse (voir le tableau).

En remplaçant, dans la sulfamide, le groupement aminique de la position para par le radical méthylthiazolyle, on obtient le sulfanyl-amido-4′-phényle-2-méthyl-4-thiazole (XIII), qui n'a pas d'action antituberculeuse, bien que le sulfathiazole (II) manifeste une faible action.

BIBLIOGRAFIE

1. C. V. Gheorghiu, A. Toma, C. Budeanu, Elena Budeanu, Gr. Stavri, Acad. R.P.R., Studii şi cercetări ştiinţifice Iaşi, **IV,** 1—2, 169 (1953).
2. C. V. Gheorghiu, C. Budeanu, El. Budeanu, A. Toma, Acad. R.P.R., Studii şi cercetări ştiinţifice Iaşi, **IV,** 1—2, 179 (1953).
3. C. V. Ghforghiu, C. Budeanu, El. Budeanu, A. Toma, Acad. R.P.R., Studii şi cercetări ştiinţifice Iaşi, 1—2, 113 (1954).
4. P. Truit, N. J. Middleton, Am. Soc., **73,** 5669 (1951); Chem. Zentr. **1952,** 6214.
5. *** *Organic Syntheses* (F. B. Dains, R. Q. Brewster, P. Olander), **1,** 447 (1948).
6. G. Benz, Ber., **15,** 1647 (1882).
7. E. Lou s, Ber., **16,** 115 (1883).
8. *** F.P. 869935/1942, F. P. 869964/1942; Chem. Zentr., **1943, II,** 195.
9. K. Ganapathi, Proc. Indian, Acad. Sc. Sec., A, **112,** 274 (1942).
10. Ch. W. Schäffer, Proc. Soc. exp. Biol. Med., **37,** 648 (1938).
11. S. Gabriel, Ph. Heymann, Ber., **23,** 158 (1890).
12. P. Fritsch, Ber., **26,** 597 (1893).

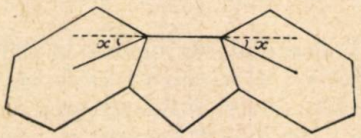
STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

SINTEZA AMFI-FLUOROCHINONEI *)

DE

ACADEMICIAN COSTIN D. NENIŢESCU şi MARGARETA AVRAM

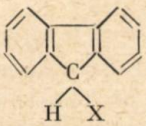
Configuraţia sterică a moleculei fluorenului nu este cunoscută cu aceeaşi siguranţă ca aceea a hidrocarburilor aromatice condensate, constituite numai din cicluri de şase atomi. Dacă se admite pentru difenil o structură cu două inele benzenice coaxiale şi coplanare, introducerea grupei CH_2 ar produce o deviere a inelelor de la orientarea lor coaxială:



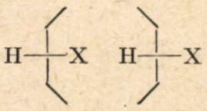
(I)

Tensiunea care s-ar produce astfel în ciclul de cinci atomi ar fi mai mică dacă planurile celor două inele benzenice ar fi înclinate faţă de planul inelului ciclopentanic [1].

Dacă molecula fluorenului ar avea o astfel de configuraţie triplanară, derivaţii monosubstituiţi în poziţia 9 ar trebui să apară în două forme izomere geometrice:



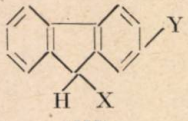
(II)



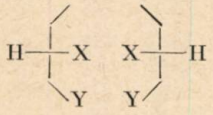
cis trans

*) Lucrare prezentată în şedinţa de Comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice, din 19 decembrie 1955.

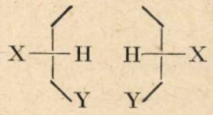
Prin introducerea unui al doilea substituent, la unul din nucleele benzenice, fiecare din acești izomeri geometrici ar deveni scindabili în antipozi optici:



(III)



d,l—cis

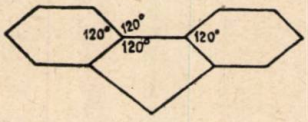


d,l—trans

Pe baza acestei concepții și sprijiniți pe observațiile unor autori mai vechi, R. Kuhn și P. Jacobi [2] au crezut că pot conchide că 9-amino-fluorenul există în două forme stereoizomere. Concepția configurației neplane a compușilor policiclici aromatici a fost supusă, la aceeași epocă, unui studiu experimental de W. Schlenk și E. Bergmann [3], care au încercat să dovedească în special structura neplană a inelelor naftalinei, antracenului, indenului și fluorenului. Baza experimentală a acestor lucrări era însă inexactă, după cum au arătat mai multe cercetări ulterioare [4].

Între anii 1930 și 1935 au fost efectuate o serie de cercetări cu raze X care au dovedit că moleculele naftalinei, antracenului și fenantrenului, în cristale, sînt, în afară de orice îndoială, plane. Problema configurației fluorenului a rămas însă deschisă. Cristalele de fluoren au fost cercetate prin metoda razelor X de J. Hengstenberg și H. Mark [5] și apoi de J. W. Cook și J. Iball [6]. Acești autori, după ce semnalează unele nepotriviri în lucrarea predecesorilor lor, ajung la concluzia că rezultatele cercetării cu raze X concordă cel mai bine cu o moleculă triplanară a fluorenului, în care planurile inelelor benzenice sînt înclinate cu circa 20° față de planul inelului ciclopentanic și deci cu circa 140° unul față de celălalt. De aceea, autorii consideră că problema chimică, a izolării izomerilor sterici ai derivaților substituiți ai fluorenului, nu este complet rezolvată.

Configurația sterică a fluorenului este supusă, în 1937, unei discuții amănunțite [7] pe baza unor măsurători de momente electrice făcute asupra unei serii de derivați substituiți ai fluorenului și ai fluorenonei. Autorii ajung la concluzia că o formulă a fluorenului cuprinzînd hexagoane regulate și coplanare (IV) este exclusă, nu numai din cauza tensiunii mari pe care ar avea-o inelul ciclopentanic, dar și din cauza nepotrivirii acestei formule cu rezultatele experimentale obținute, de exemplu din cauza faptului că momentul electric al fluorenonei nu este egal cu momentul derivaților fluorenonei substituiți în pozițiile 2,7 cu doi substituenți identici



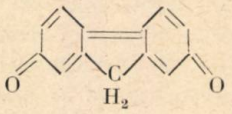
(IV)

De aceea, autorii [7] iau în considerație o serie de modele neplane ale moleculei fluorenului, înclinînd pentru o structură cu inele hexagonale neregulate (avînd unghiul x din formula (I) de circa 8°) și cu o configurație neplană (cu inelele benzenice înclinate cu cîte 20° față de inelul ciclopentanic). Alte trei lucrări [8] nu aduc nici o clarificare în această problemă.

În 1942, o scurtă trecere în revistă a lucrărilor despre configurația fluorenului [9] constată că datele din literatură nu confirmă dar nici nu exclud o configurație neplană a acestei hidrocarburi. O configurație neplană ar tinde să mic-

şoreze tensiunea din inelul ciclopentanic, dar o astfel de configuraţie implică o deviere fără precedent a direcţiilor valenţelor benzenului în afara planului inelului aromatic. În literatura din ultimii ani nu găsim decît o simplă afirmaţie, fără dovezi, nici discuţie, că fluorenul are structură plană [10].

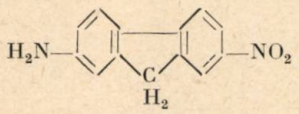
În lucrarea de faţă ne-am propus să aducem o contribuţie la problema configuraţiei moleculei de fluoren, prin sinteza 2,7-fluorochinonei (V):



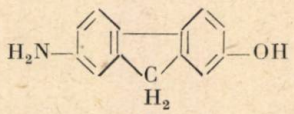
(V)

Existenţa unei asemenea chinone implică o conjugare între cele două inele de şase atomi, prin intermediul unei duble legături în inelul ciclopentanic. Un asemenea sistem conjugat nu poate exista decît într-o moleculă plană.

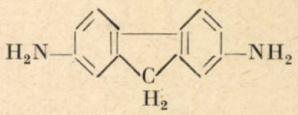
2,7-Dihidroxi-fluorenul (X) necesar pentru obţinerea chinonei (V) nu este cunoscut în literatură. S-a încercat întîi prepararea acestui compus pornind de la 2-nitro-7-amino-fluoren [11] (VI) a cărui diazotare şi reducere însă nu a reuşit. Pornind apoi de la 2-hidroxi-fluoren [12], s-a obţinut prin nitrare 2-hidroxi-7-nitro-fluoren, care prin reducere a fost transformat în 2-hidroxi-7-amino-fluoren (VII). Diazotarea acestui compus nu a condus la rezultatul dorit. În sfîrşit nici diazotarea 2,7-diamino-fluorenului (VIII) nu duce la un dihidroxi-derivat. Prin fierberea soluţiei sării de diazoniu se obţine o pulbere brună insolubilă în disolvanţii uzuali şi cu caracterul unui produs de condensare macromolecular.



(VI)

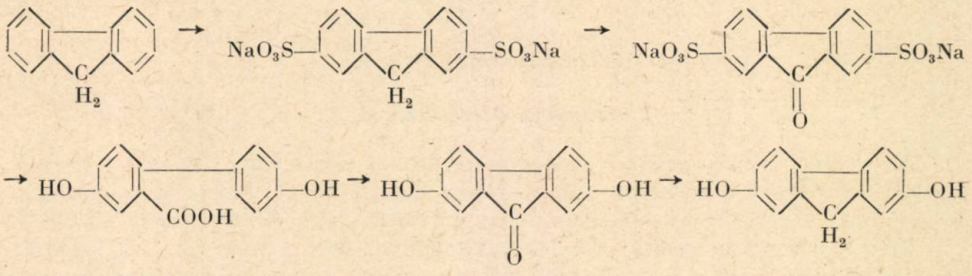


(VII)



(VIII)

Am obţinut 2,7-dihidroxi-fluorenul (X) pornind de la 2,7-dihidroxi-fluorenona (IX), obţinută de Ch. Courtot [14], pe calea următoare:



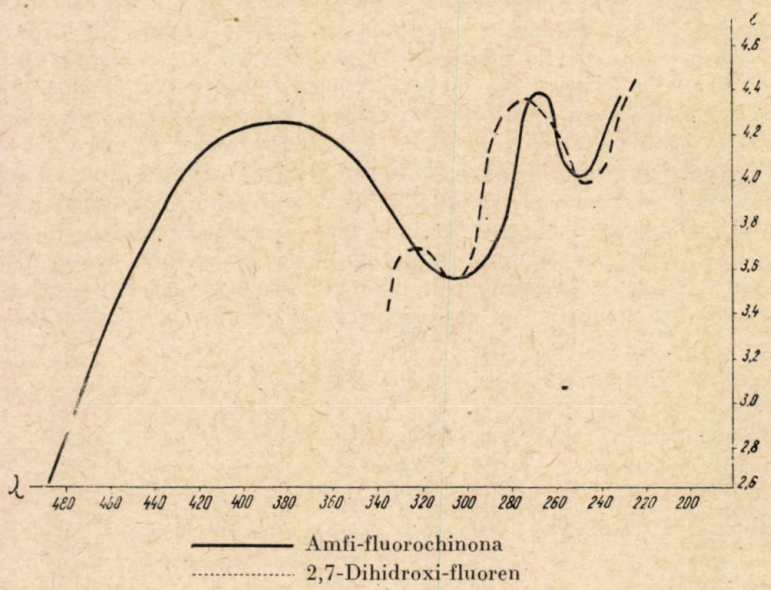
(IX) (X)

Reducerea fluorenonei la dihidroxi-fluoren s-a făcut după metoda Chijner-Wolff, modificată de Huang-Minlon [15]. Cele mai bune rezultate se obţin lucrînd fără adaos de hidroxizi alcalini şi fără dizolvant.

2,7-Dihidroxi-fluorenul a fost caracterizat prin prepararea unui diacetil- şi unui dimetil-derivat.

Prin oxidarea 2,7-dihidroxi-fluorenului cu oxid de argint, în soluţie eterică, după R. Willstätter şi A. Pfannenstiel [16] se obţine o substanţă

cristalină, cu pt. 165—167°, de culoare roșie-cărămizie, care are toate calitățile unei chinone și pentru care propunem numele de amfi-fluorochinonă. Substanța aceasta poate fi conservată cîteva zile fără descompunere. Pune iod în libertate din soluția de iodură de potasiu, iar prin reducere cu ditionit de sodiu le transformă în 2,7-dihidroxi-fluoren. Amestecînd cantități echimoleculare de amfi-fluorochinonă cu 2,7-dihidroxi-fluoren se obține o chinhidronă de culoare verde. Spectrul de absorbție, determinat de A. Solomon, de la Institutul V. Babeș, arată două benzi de absorbție, dintre care o bandă lată cu maximum la 385 mμ (ε = 16 600) și o bandă cu maximum la 270 mμ (ε = 23 000). S-a determinat și spectrul de absorbție al 2,7-dihidroxi-fluorenului, ale cărui două benzi au maximum 320 mμ (ε = 4 580) și 275 mμ (ε = 21 000).



PARTEA EXPERIMENTALĂ

2,7-Dihidroxi-fluorenona (IX)

S-a pornit de la fluoren care a fost sulfonat după Ch. Courtot [14]. Topitura alcalină s-a făcut cu hidroxid de sodiu, în loc de hidroxid de potasiu, obținîndu-se acidul difenil-*o*-carboxilic, cu un randament de 40—45%, p.t. 283°.

Prin încălzirea acidului difenil-*o*-carboxilic cu $ZnCl_2$, după Ch. Courtot [14] s-a obținut 2,7-dihidroxi-fluorenona, cristale de culoare vișinie după recristalizare din alcool și apă. *p.t.* 338°.

2,7-Dihidroxi-fluorenul (X)

Varianta I (după Huang-Minlon). Într-un amestec de 34 g (0,16 moli) 2,7-dihidroxi-fluorenonă, 35 g KOH (0,625 moli) în 250 cm^3 glicerină, se adaugă 25 cm^3 hidrat de hidrazină (85%). Se încălzește cu refrigerent ascendent, o oră și jumătate la 100°, apoi, după formarea hidrazonei, se ridică tem-

peratura la 195° și se ține la această temperatură 4 ore. Final, se toarnă în apă și se acidulează cu HCl. 2,7-Dihidroxi-fluorenul, de culoare albă cenușie, se filtrează la trompă și se recristalizează din alcool diluat.

Varianta II, 7 g (0,033 moli) 2,7-dihidroxi-fluorenonă și 50 cm³ hidrat de hidrazină (85%) se încălzesc, pe o baie de parafină, 8 ore la 130—140°. Sfîrșitul reacției se recunoaște prin decolorarea soluției. Se obțin 5 g cristale, de culoare slab gălbuie care se filtrează la trompă și se spală cu apă (randament 76 %). Pentru purificare, se recristalizează din 350 cm³ alcool metilic. Se obțin 4 g 2,7-dihidroxi-fluoren pur, p.t. 233°. Randament, după purificare 61 %.

Din filtrat se mai poate obține produs mai impur. 2,7-Dihidroxi-fluorenul reține alcool de cristalizare pe care îl pierde, prin încălzire în vid, la 110°, timp 24 de ore.

$C_{13}H_{10}O_2$ (198,078)	Calculat:	C = 78,75	H = 5,08
	Găsit:	78,88	4,85
		78,75	5,24

Se ajunge la același rezultat și prin încălzirea 2,7-dihidroxi-fluorenului cu hidrat de hidrazină, în tub închis, 6 ore, la 160°.

2,7-Diacetoxi-fluorenul

1g (0,0047 moli) 2,7-dihidroxi-fluoren se încălzește cu 15 g anhidridă acetică, timp de 2 ore, la 135—140°. O parte din diacetoxi-derivat cristalizează. Se filtrează la trompă, se spală cu apă și se recristalizează din alcool anhidru. Cristale albe, p.t. 164°,5.

$C_{17}H_{14}O_4$ (282)	Calculat:	C 72,79	H 5,00
	Găsit:	72,06	5,18

2,7-Dimetoxi-fluoren

1g (0,0047 moli) 2,7-dihidroxi-fluoren se agită jumătate de oră cu 5 cm³ hidroxid de sodiu 10 % și 2 g (0,015 moli) dimetil-sulfat. Dimetoxi-flourenul format, se filtrează și se recristalizează din alcool anhidru. Cristale albe, p.t. 169°.

Amfi-fluorochinona (V)

Într-un balon Erlenmeyer cu dop rodat se introduc 1,98 g (0,01 moli) de 2,7-dihidroxi-fluoren pur și 250 cm³ eter anhidru; după 5 minute de agitare, se dizolvă cea mai mare parte din produs.

Se adaugă, într-o singură porțiune, 10 g oxid de argint proaspăt preparat și 8 g sulfat de sodiu calcinat.

Oxidul de argint s-a preparat din azotat de argint prin precipitare cu o soluție diluată de NaOH p.a. După ce s-a spălat de 12 ori cu apă, s-a spălat de 6 ori cu acetonă și de 6 ori cu eter anhidru, pentru îndepărtarea urmelor de umezeală.

Se agită energic 15—20 de minute. Soluția, incoloră la început, devine verde și apoi galben-roșcată. Se filtrează repede într-un balon cu șlif și precipitatul de Ag_2O rămas pe filtru se spală cu puțin eter. Se concentrează în vid la temperatura camerei. Pentru a evita umezirea produsului în timpul evaporării eterului, aerul introdus în sistem, pentru uscare, se trece prin tuburi cu P_2O_5.

Pentru a obține un produs cît mai pur se evaporă aproximativ jumătate din cantitatea de eter introdus. Se obțin aproximativ 0,1 g cristale roșii-cărămizii de amfi-fluorochinonă.

Prin concentrarea mai avansată a soluției eterice se obține produs mai puțin pur.

Amfi-fluorochinona se prezintă sub formă de ace de culoare roșie-cărămizie, cu p.t. 165—167° (desc.). Se poate conserva în vid, la întuneric 3—4 zile.

$C_{13}H_8O_2$ (196)	Calculat:	C 79,58	H 4,11
	Găsit:	79,40	4,47

La încălzire se colorează și se transformă într-un ulei negru. Chinona este solubilă în etanol, metanol, eter, acetonă; insolubilă în apă. Pune în libertate iod în soluția acidă de iodură de potasiu.

Prin amestecarea amfi-fluorochinonei cu cantitatea echimoleculară de 2,7-dihidroxi-fluoren dizolvat în eter, se obține chinhidrona, de culoare verde închis. Se topește la 235° (desc.), la 195° se decolorează.

Prin tratarea unei suspensii apoase alcoolice de amfi-fluorochinonă cu ditionit de sodiu se regenerează 2,7-dihidroxi-fluorenul.

Laboratorul de chimie organică al Institutului politehnic, București

Lucrare prezentată la redacție la 26 septembrie 1955

СИНТЕЗ АМФИФЛУОРОХИНОНА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Был синтезирован амфифлуорохинон путем окисления 2,7-дигидроксифлуорена окисью серебра. Был получен 2,7-дигидроксифлуорен путем восстановления 2,7-дигидроксифлуоренона гидразином.

Были определены спектры поглощения этих двух веществ.

SYNTHÈSE DE L'AMPHI-FLUOROQUINONE

(RÉSUMÉ)

L'amphi-fluoroquinone a été synthétisée par oxydation du 2,7-dihydroxy-fluorène à l'oxyde d'argent. Le 2,7-dihydroxy-fluorène a été obtenu par réduction de la 2,7-dihydroxy-fluorénone par l'hydrazine.

Les Auteurs ont déterminé les spectres d'absorption des deux substances.

BIBLIOGRAFIE

1. W. H. Mills, W. H. Palmer, M. G. Tomkinson, J. Chem. Soc., **125,** 2365 (1924).
2. R. Kuhn, P. Jacobi, Ber., **58,** 1432 (1925).
3. W. Schlenk, E. Bergmann, Ann., **463,** 125 (1928).
4. A. Kliegl, A. Wünsch, R. Weigele, Ber., **59,** 634 (1926); A. Kliegl, Ber., **62,** 1327 (1929); **64,** 2420 (1931); W. Bachmann, J. Am. Chem. Soc., **52,** 3290 (1930).
5. J. Hengstenberg, H. Mark, Zeitsch. Krist., **70,** 289 (1929); Chem. Zentr., **1930, II,** 3668.
6. J. W. Cook, J. Iball, Chemistry and Industry, **1936,** 467.
7. E. D. Hughes, C. G. Le Fèvre, R. J. W. Le Fèvre, J. Chem. Soc., 1937, 202.

8. L. A. Pinck, G. E. Hilbert, J. Am. Chem. Soc., **59,** 8 (1937); W. C. Lothrops, J. Am. Chem. Soc., **61,** 2115 (1939); J. A. Cofman, J. Am. Chem. Soc., **63,** 2564 (1941).
9. J. W. Cook, Ann. Rep. on Progr. Chem., 1942, 171.
10. C. H. Beaven, D. Muriell Hall, M. S. Lesslie, E. E.Turner, J. Chem. Soc., 1952, 854.
11. O. Diels, E. Schill, S. Talson, Ber., **35,** 3288 (1902).
12. O. Diels, Ber., **34,** 1761 (1901).
13. G. T. Morgan, R. W. Tomason, J. Chem. Soc., 1926, 2691; A. Novelli, C. Ruiz, Annales Asoc. quim. Argentina, **16**, 56, 67; Chem. Zentr., 1928, **II,** 2555.
14. Ch. Courtot, Ann. Chim., (10) **14,** 5, 146 (1930).
15. Huang-Minlon, J. Am. Chem. Soc., **68,** 2487 (1946); **16,** 1435 (1945).
16. R. Willstätter, A. Pfannenstiel, Ber., **37,** 4744 (1904).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

DESPRE O RELAŢIE ÎNTRE PUNCTELE DE TOPIRE ŞI NUMĂRUL DE ATOMI DE CARBON ÎN SERIA PARAFINELOR NORMALE SUPERIOARE *)

DE

ACADEMICIAN COSTIN D. NENIŢESCU şi ACADEMICIAN ŞERBAN ŢIŢEICA

Într-o Comunicare anterioară [1] am arătat că punctul de topire, în grade Celsius, al unei parafine normale, conţinînd mai mult decît 25 atomi de carbon în moleculă, se poate calcula cu ajutorul ecuaţiei empirice:

$$\text{p. t.} = 32 - 0{,}56\, n + 15{,}84 \sqrt{n - 19{,}7}$$

în care n reprezintă numărul de atomi de carbon. În tablou sînt redate punctele de topire calculate, ale parafinelor normale cu $n = 25 - 80$, precum şi punctele de topire, din literatura accesibilă la apariţia acelei Comunicări, a 16 parafine superioare, cuprinse în intervalul considerat. Concordanţa dintre valorile calculate şi cele găsite experimental poate fi considerată ca bună avînd în vedere faptul că multe determinări de puncte de topire nu sînt făcute cu o precizie deosebit de mare.

Cum amestecurile de termeni apropiaţi din seria omoloagă a n-parafinilor superioare nu prezină fenomenul depresiunii punctului de topire, ecuaţia de mai sus poate servi la determinarea greutăţilor moleculare medii a amestecurilor de n-parafine, dacă acestea nu conţin substanţe străine. Metoda este aplicabilă la parafinele superioare din petrol, separate de însoţitorii obişnuiţi cu catene ramificate şi ciclice prin cristalizări din dizolvanţi.

În cele ce urmează vom considera posibilitatea extinderii ecuaţiei punctelor de topire la cîteva cazuri descoperite după prima noastră Comunicare.

Recent [2] au fost obţinute prin sinteză cele două parafine normale cu 82 şi cu 100 atomi de carbon. Punctele de topire găsite experimental (corectate) şi cele calculate din ecuaţie sînt:

	Găsit	*Calculat*
$C_{82}\ H_{166}$	109,6—110,0	110,2°
$C_{100}\ H_{202}$	115,1—115,4	117,9°

După cum se vede, concordanţa este bună la hidrocarbura C_{82} şi destul de bună la C_{100}, dacă se ţine seama de dificultăţile întîmpinate la purificarea acestor hidrocarburi superioare.

*) Lucrare prezentată în şedinţa de Comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice, din 19 decembrie 1955.

Prin derivarea ecuației punctelor de topire se obține un maximum la 133°. Acesta reprezintă punctul de topire maxim pe care îl poate atinge o parafină normală; aceasta va avea circa 220 atomi de carbon sau mai mulți. Se poate deci prevedea, pe baza ecuației, o creștere din ce în ce mai mică a punctului de topire cu greutatea moleculară, pînă la valoarea asimptotică de circa 133°C.

Este interesant de constatat că nu numai punctul de topire ci și alte proprietăți termodinamice ale parafinelor normale solide prezintă o temperatură de convergență de 135°C [3].

Parafine	p.t. găsit	p.t. calculat	Parafine	p.t. găsit	p.t. calculat
$C_{25}H_{52}$	54	54,47	$C_{54}H_{110}$	95	94,53
$C_{26}H_{54}$	56,7	57,20	$C_{55}H_{112}$		95,31
$C_{27}H_{56}$	59,5	59,68	$C_{56}H_{114}$		96,08
$C_{28}G_{58}$	61,8	61,59	$C_{57}H_{116}$		96,82
$C_{29}H_{60}$		64,07	$C_{58}H_{118}$		97,55
$C_{30}H_{62}$	66,1	66,04	$C_{59}H_{120}$		98,26
$C_{31}H_{64}$	68	67,89	$C_{60}H_{122}$	98,5—99,3	98,95
$C_{32}H_{66}$	70	69,63	$C_{61}H_{124}$		99,64
$C_{33}H_{68}$		71,29	$C_{62}H_{126}$	100,5	100,30
$C_{34}H_{70}$	72,9	72,86	$C_{63}H_{128}$		100,95
$C_{35}H_{72}$	74,6	74,36	$C_{64}H_{130}$	102	101,59
$C_{36}H_{74}$	76	75,89	$C_{65}H_{132}$		102,21
$C_{37}H_{76}$		77,16	$C_{66}H_{134}$		102,82
$C_{38}H_{78}$		78,48	$C_{67}H_{136}$		103,42
$C_{39}H_{80}$		79,75	$C_{68}H_{138}$		104,00
$C_{40}H_{82}$	80,5—81	80,97	$C_{69}H_{140}$		104,58
$C_{41}H_{84}$		82,14	$C_{70}H_{142}$	105—105,5	105,14
$C_{42}H_{86}$		83,28	$C_{71}H_{144}$		105,69
$C_{43}H_{88}$		84,38	$C_{72}H_{146}$		106,23
$C_{44}H_{90}$		85,44	$C_{73}H_{148}$		106,76
$C_{45}H_{92}$		86,47	$C_{74}H_{150}$		107,28
$C_{46}H_{94}$		87,47	$C_{75}H_{152}$		107,79
$C_{47}H_{96}$		88,44	$C_{76}H_{154}$		108,29
$C_{48}H_{98}$		89,39	$C_{77}H_{156}$		108,78
$C_{49}H_{100}$		90,30	$C_{78}H_{158}$		109,26
$C_{50}H_{102}$		91,19	$C_{79}H_{160}$		109,74
$C_{51}H_{104}$		92,06	$C_{80}H_{162}$		110,20
$C_{52}H_{106}$		92,90			
$C_{53}H_{108}$		93,73			

În literatura recentă se găsesc unele dovezi experimentale pentru existența unei valori limite a punctului de topire la parafinele macromoleculare. În primul rînd vom menționa hidrocarbura cu fomula $(CH_2)_x$, care se depune din soluția eterică de diazo-metan, sub acțiunea catalitică a boratului de metil (Bamberger; Meerwein [4]) și care se presupune a fi o parafină neramificată. Determinările de greutăți moleculare ale acestei hidrocarburi greu solubile au condus la valori mult divergente: 1 800—2 000 [4], 22 000 [5] 200 000 [6] și în urmă chiar 3 300 000 [ ]. Cu toate aceste discordanțe, este cert că polimetilena obținută prin descompunerea catalitică a diazo-metanului este un compus macromolecular, cu gradul de polimerizare întrecînd cu mult limita $n=220$, cerută de ecuația de mai sus pentru atingerea punctului de topire constant. Punctul de topire (temperatura tranziției de ordinul I), determinat din variația volumului măsurată dilatometric în funcție de temperatură, a fost găsit de 132° [7] și 136,5° [8], valori apropiate de cea prevăzută de ecuație. Aceasta confirmă concluzia că această polimetilenă este compusă din macromolecule riguros liniare.

Punctul de topire al polietilenei obținute prin procedeul obișnuit de polimerizare radicalică la presiune înaltă, a fost găsit de 115°, ceea ce indică o ramificare a catenelor macromoleculare. La această concluzie s-a ajuns de altfel și prin studiul altor însușiri ale acestui compus. Dimpotrivă, polietilena obținută prin procedeul recent al polimerizării etilenei cu trietil-aluminiu, după Ziegler [9] arată puncte de topire de 124—133° determinate cu microscopul cu placă încălzită sau din curbele de volum-temperatură observate dilatometric. Se confirmă deci și pe această cale că această polietilenă are structură liniară, neramificată.

Laboratorul de chimie organică al Institutului politehnic, București

Lucrare prezentată la redacție la 26 septembrie 1955

О СВЯЗИ МЕЖДУ ТОЧКАМИ ПЛАВЛЕНИЯ И ЧИСЛОМ АТОМОВ УГЛЕРОДА В РЯДЕ ВЫСШИХ НОРМАЛЬНЫХ ПАРАФИНОВ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторами установлена связь между точками плавления и числом атомов углерода в ряде высших нормальных парафинов на основании эмпирического уравнения. Уравнение применимо и к высокомолекулярным парафинам.

D'UNE RELATION ENTRE LE POINT DE FUSION ET LE NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE DANS LA SÉRIE DES PARAFFINES NORMALES SUPÉRIEURES

(RÉSUMÉ)

Les Auteurs ont déterminé une relation entre le point de fusion et le nombre d'atomes de carbone dans la série des paraffines normales supérieures, à partir d'une équation empirique. Cette équation est également utilisable dans le cas des paraffines macromoléculaires.

BIBLIOGRAFIE

1. C. D. Nenițescu, Ș. Țițeica, I. Irimescu, Die Naturwissenschaften, **26,** 629 (1938).
2. G. Stälberg, G. Stälberg-Stenhagen, E. Stenhagen, Acta Chim. Scand., **6,** 313 (1925); Chem. Abstr., **47,** 3788 (1953).
3. A. M. King, F. E. Garner, J. Chem. Soc., 1934, 1449.
4. H. Meerwein, Angew. Chem., **60,** 78 (1948).
5. S. Harris, J. Polym. Sci., **8,** 353 (1952).
6. G. D. Buckley, N. H. Ray, J. Chem. Soc., 1952, 3701.
7. S. W. Kantor, R. C. Osthoff, J. Am. Chem. Soc., **75,** 931 (1953).
8. L. Mandelkern, M. Hellmann, Dr. W. Brown, D. E. Roberts, F. A. Quinn, J. Am. Chem. Soc., **75,** 4093 (1953).
9. K. Ziegler, Angew. Chem., **67,** 541 (1955).
10. E. Grams, E. Gaube, Angew. Chem., **67,** 548 (1955).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

ACŢIUNEA ALCOOLAŢILOR ASUPRA NITRODERIVAŢILOR AROMATICI HALOGENAŢI (I)

(ACŢIUNEA HIDROXIZILOR ALCALINI METILALCOOLICI ŞI A METILATULUI DE SODIU ASUPRA *P*-NITRO-CLORBENZENULUI)

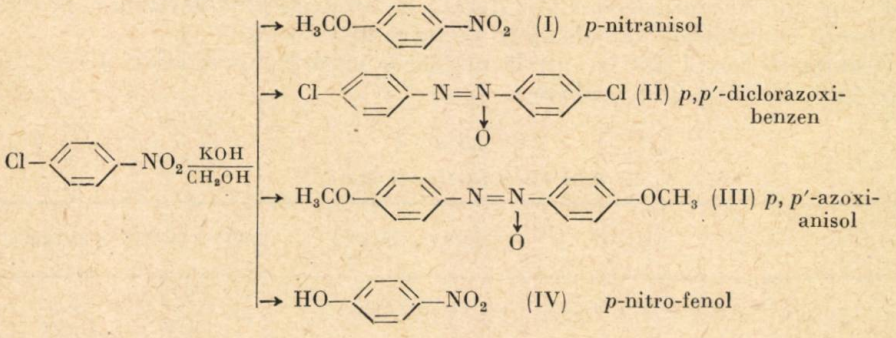
DE

MARIA IONESCU şi MARCELA FĂRCĂŞAN

Cu ocazia încercărilor făcute pentru obţinerea *p*-nitranisolului, care este o substanţă intermediară la prepararea nucleului de bază al plasmochinei [1], ne-am dat seama că un studiu sistematic al acţiunii alcoolaţilor alcalini asupra nitroderivaţilor aromatici halogenaţi, ar putea aduce contribuţii utile teoretice şi practice, sintetice.

În lucrarea de faţă se arată rezultatele obţinute în studiul acţiunii, atît a metilatului de sodiu în soluţie de alcool metilic cît şi a hidroxizilor alcalini metilalcoolici asupra *p*-nitro-clorbenzenului.

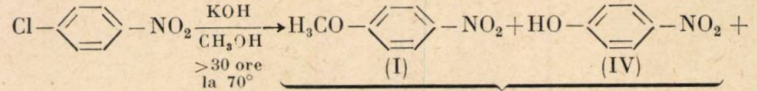
Acţiunea hidroxizilor alcalini metilalcoolici asupra *p*-nitro-clorbenzenului a fost cercetată de o serie de autori care urmăreau noi metode sintetice de obţinere a substanţelor (I, II, III şi IV):

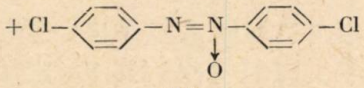


Astfel, K. Heumann [2] şi A. Laubenheimer [3] caută să prepare *p*, *p'*-diclorazoxibenzenul în condiţii optime, iar C. Willgerodt [4] şi L. Gattermann şi A. Ritschke [5] studiază mai atent reacţia urmărind şi unii dintre produşii secundari care apar. D. H. Richardson [6] dă metoda de obţinere a *p*-nitranisolului (I) şi arată că produsul

secundar al reacţiei, în condiţiile date, este numai *p*-nitro-fenolul (IV). Lucrările lui O. M a t t e r [7] şi patentul [8] aduc de asemenea contribuţii la obţinerea *p*-nitranisolului (I).

Un studiu sistematic al acţiunii hidroxizilor alcalini metilalcoolici asupra *p*-nitro-clorbenzenului, a fost făcut de A. V. B l o m [9], care găseşte că reacţia are loc după schema următoare:





(II)

produs de reducere

Din lucrările autorilor citaţi [4], [6] şi [9] se precizează acţiunea diferiţilor factori asupra randamentului în *p*-nitranisol (I).

Temperatura optimă de reacţie pentru formarea *p*-nitranisolului (I) este de 70°. Temperaturi mai ridicate favorizează reducerea întîi la azoxiderivat, apoi la azoderivat.

Cu cît *concentraţia* în alcalii este mai mare cu atît randamentul în *p*-nitranisol (I) este mai mic.

Solventul influenţează de asemenea reacţia: dacă prin diluare cu apă cantitatea de *p*-nitranisol (I) obţinută este aceeaşi, diluarea cu benzen face ca randamentul în *p*-nitranisol (I) să scadă, formîndu-se *p*, *p'*-diclorazoxibenzenul (II).

Cu cît *durata încălzirii* este mai lungă cu atît se obţin cantităţi mai mari de *p*-nitranisol (I) aşa încît la o încălzire de 20 de ore randamentul în *p*-nitranisol este de 50 %, iar la 170 de ore randamentul este de 83 %.

Pentru a completa datele din literatură privind acţiunea hidroxizilor alcalini metilalcoolici asupra *p*-nitro-clorbenzenului, am studiat reacţia cu KOH sau NaOH metilalcoolic la o durată de încălzire pînă la 48 ore, precum şi influenţa cantităţilor de substanţe ce intră în reacţie.

Rezultatele medii sînt trecute în tablourile nr. 1 şi 2 şi se referă la reacţiile făcute pe baia de apă la fierbere.

Tabloul nr. 1

Influenţa duratei de încălzire

KOH	CH_3OH	*p*-nitro-clorbenzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol
5,6 g (0,1 mol)	200 cm³ (4,95 mol)	15,7 g (0,1 mol)	1 ore	0 %
»	»	»	6 »	83 %
»	»	»	12 »	88 %
»	»	»	24 »	77 %
»	»	»	48 »	64 %

Din tabloul nr. 1 rezultă că prin încălzire timp de o oră nu se obţine *p*-nitranisol (I), în timp ce o încălzire de 6—12 ore duce la obţinerea randamen-

telor maxime. Datele din literatură cer o încălzire mult mai îndelungată (peste 150 de ore) pentru a obține aceleași randamente în *p*-nitranisol (I), [4] și [9].

Cercetările noastre au arătat dimpotrivă că prin prelungirea timpului de încălzire peste 12 ore, randamentul în *p*-nitranisol (I) începe să scadă fapt care este în complet dezacord cu afirmațiile făcute de A. V. B l o m [9], că randamentul rămîne același la o încălzire timp de 30—100 ore.

Tabloul nr. 2

Influența cantităților ce intră în reacție

KOH	CH_3OH	*p*-nitro-clorbenzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol
5,6 g (0,1 mol)	200 cm³ (4,95 mol)	15,7 g (0,1 mol)	24 ore	77 %
37,4 g (0,66 mol)	1300 cm³(32,16 mol)	104 g (0,66 mol)	24 ore	77,3 %

Tabloul nr. 2 arată că randamentul în *p*-nitranisol nu este influențat de cantitățile ce intră în reacție, dacă se păstrează același raport între componente.

S-a confirmat faptul că la temperatura de fierbere a băii de apă, diluarea cu apă [9] nu influențează randamentul în *p*-nitranisol, după cum reiese din tabloul nr. 3.

Tabloul nr. 3

Influența diluării cu apă

KOH	CH_3OH	H_2O	*p*-nitro-clor-benzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol
5,6 g (0,1 mol)	200 cm³ (4,95 mol)	—	15,7 g (0,1 mol)	12 ore	88%
5,6 g (0,1 mol)	150 cm³ (3,71 mol)	60 cm³ (2,7 mol)	15,7 g (0,1 mol)	12 ore	88%

Urmărind formarea produșilor secundari am constatat că apare *p,p'*-diclorazoxibenzen (II) după un timp de fierbere de 24 de ore, așa cum este arătat și de către B l o m [9].

În literatură lipsește un studiu sistematic al *acțiunii alcoolaților de sodiu* asupra *p*-nitro-clorbenzenului. Patentele [10] și [11] arată că sub acțiunea metilatului și etilatului de sodiu se obține *p*-nitranisol, respectiv *p*-nitrofenetol. În patentul [11] se susține că se poate obține *p*-nitranisol (I), practic cantitativ prin încălzire la 70°, timp de 48 de ore, din *p*-nitro-clorbenzen sub acțiunea metilatului de sodiu.

W. D a v i e s-D o w n [12] constată că prin acțiunea metilatului de sodiu asupra *p*-nitro-clorbenzenului se formează *p, p'*-azoxianisol (III) indicînd și condiții în care substituirea clorului are loc înaintea reducerii grupării nitro.

Cercetările întreprinse de noi în această direcție ne-au dus la următoarele rezultate (tabloul nr. 4).

Și în cazul acțiunii metilatului de sodiu, pentru formarea *p*-nitranisolului temperatura optimă este de 70°.

Nerespectînd această temperatură, randamentul în *p*-nitranisol (I) scade și apare ca produs secundar de reacție chiar de la început *p, p'* - diclorazoxi-

benzen (II), iar după oarecare timp şi *p, p'*-azoxianisol (III) ca urmare a acţiunii reducătoare a soluţiei de metilat de sodiu.

Tabloul nr. 4

Influenţa temperaturii

Na	CH_3OH	*p*-nitro-clorbenzen	Temp.	Timp	Rand. *p*-nitranisol
40 g (1,73 mol)	500 cm³ (12,37 mol)	100 g (0,63 mol)	70°	24 ore	63 %
40 g (1,73 mol)	500 cm³ (12,37 mol)	100 g (0,63 mol)	78°	24 ore	28 %

Acţiunea reducătoare a soluţiei de metilat de sodiu asupra nitro-benzenului nehalogenat a fost cercetată de către J. W. B r ü h l [13].

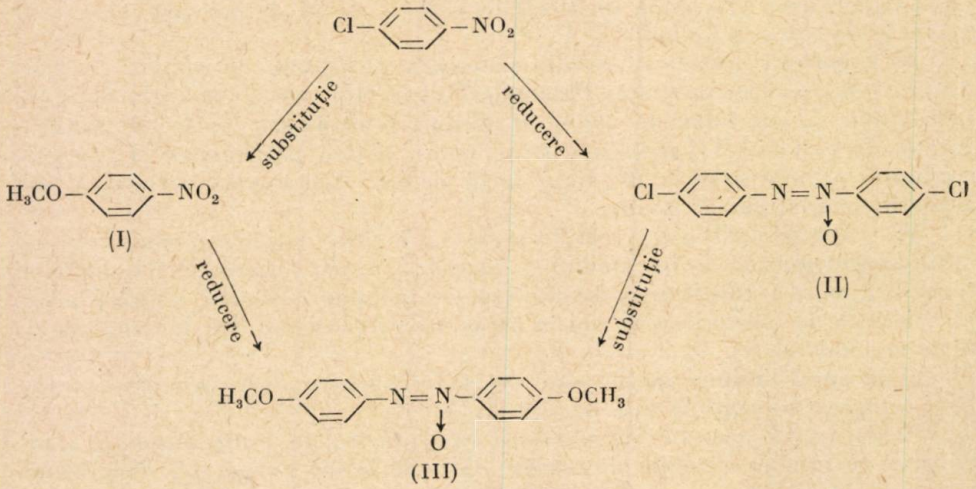
Urmărind influenţa duratei de încălzire pe baia de apă la fierbere din datele medii obţinute, am întocmit tabloul nr. 5.

Tabloul nr. 5

Influenţa duratei de încălzire

Na	CH_3OH	*p*-nitro-clor-benzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol	Prod. sec.
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	1/4 ore	58%	12% (II)
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	1/2 ore	60%	13% (II)
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	1 ore	66%	6% (II)
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	6 ore	47%	31% (II) şi (III)
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	12 ore	43%	36% (II) şi (III)
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,02 mol)	24 ore	27%	38% (II) şi (III)
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	48 ore	14%	72% (II) şi (III)

Interpretarea mersului reacţiei dintre *p*-nitro-clorbenzen şi soluţia de metilat de sodiu în alcool metilic, în condiţiile noastre de lucru redate în tabloul nr. 5, este următoarea: substituirea şi reducerea decurg concomitent şi se tinde la formarea *p, p'*-azoxianisolului (III) produsul de substituţie şi de reducere a *p*-nitro-clorbenzenului după schema:



Această constatare, contrazice afirmația lui D a v i e s [12] care susține că înlocuirea clorului cu gruparea metoxil în *p*, *p'*-diclorazoxibenzen ar fi dificilă și că în condițiile sale de lucru are loc mai întîi substituirea și apoi reducerea obținînd după 48 ore *p*, *p'*-azoxianisol recristalizat cu 64 % randament.

În sintezele noastre de 48 de ore am obținut *p*, *p'*-azoxianisol brut cu randament de 72 %.

Reacția de substituție preponderează la o încălzire ce nu depășește 12 ore formîndu-se *p*-nitranisol (I) ca produs principal al acțiunii soluției metilalcoolice de metilat de sodiu, în timp ce o încălzire de mai lungă durată duce la formarea în cantități mari a *p*, *p'*-azoxianisolului (III), *p*-nitranisolul (I) ajungînd în aceste condiții un produs secundar.

Ca exemplu în care metilatul de sodiu are numai rol reducător, dăm rezultatul încercărilor făcute cu cantitatea calculată, necesară substituției, de metilat de sodiu solid, solvit în heptan, asupra *p*-nitro-clorbenzenului, încălzind pe baia de apă la fierbere. După 6 ore de încălzire și chiar după 12 ore nu s-a izolat decît, *p*, *p'*-diclorazoxibenzen (II) în cantități mici și s-a recuperat substanța inițială nereacționată. În acest caz, în lipsa alcoolului metilic deci, nu are loc decît reacția de reducere.

Influența cantității de alcool metilic asupra dirijării reacției spre reducere sau substituție se vede foarte clar din tabloul nr. 6.

Tabloul nr. 6

Influența cantității de alcool metilic

Na	CH_3OH	*p*-nitro-clorbenzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol	Prod. sec.
8 g (0,34 mol)	65 cm³ (1,60 mol)	20 g (0,12 mol)	6 ore	28%	56%
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	6 ore	47%	31%
8 g (0,34 mol)	200 cm³ (4,95 mol)	20 g (0,12 mol)	6 ore	72%	1%

La același raport molar între sodiu și *p*-nitro-clorbenzen cu cît se mărește cantitatea de alcool metilic este favorizată reacția de substituție obținîndu-se *p*-nitranisol (I) cu un randament tot mai ridicat, în timp ce produșii obținuți prin reducere descresc treptat.

Surprinzătoare este comportarea *p*-nitro-brombenzenului care supus acțiunii soluției de metilat de sodiu în alcool metilic, deși mobilitatea bromului este în general mai mare decît aceea a clorului, după datele clasice, totuși nu s-a obținut decît produsul rezultat prin reducere și anume *p*, *p'*-dibromazoxibenzen, după 6 ore de reacție. Această comportare este în perfectă concordanță cu faptul că în literatură nu se menționează obținerea *p*-nitranisolului (I) sub acțiunea metilatului de sodiu asupra *p*-nitro-brombenzenului, iar pe de altă parte cercetări foarte recente [14] arată că vitezele de reacție între metilatul de sodiu și *p*-fluor-, *p*-clor-, *p*-brom- și *p*-iodnitro-benzen în metanol absolut la 0,50 și 100° scad în ordinea F > Cl > Br > J. Studii asupra comportării *p*-nitro-brombenzenului sînt în curs.

Acțiunea metilatului de sodiu asupra *p*-nitro-clorbenzenului am studiat-o și în ceea ce privește cantitățile ce intră în reacție precum și influența pe care o are cantitatea de metilat de sodiu (tabloul nr. 7).

Ca şi în reacţia cu hidroxizi alcalini metilalcoolici, masa de reacţie nu influenţează sensibil randamentul, dacă se păstrează acelaşi raport între componente.

Tabloul nr. 7

Influenţa cantităţilor ce intră în reacţie

Na	CH_3OH	*p*-nitro-clorbenzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	24 ore	27%
40 g (1,73 mol)	500 cm³ (12,37 mol)	100 g (0,63 mol)	24 ore	28%

Tabloul nr. 8

Influenţa cantităţii de metilat de sodiu

Na	CH_3OH	*p*-nitro-clorbenzen	Timp	Rand. *p*-nitranisol	Prod. sec.
7 g (0,30 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	12 ore	75%	9%
8 g (0,34 mol)	100 cm³ (2,47 mol)	20 g (0,12 mol)	12 ore	43%	36%

După cum se vede din tabloul nr. 8 influenţa concentraţiei are acelaşi sens ca şi în reacţia cu hidroxizi alcalini metilalcoolici: micşorarea cantităţii de alcalii măreşte considerabil randamentul în *p*-nitranisol (I).

TEHNICA GENERALĂ DE LUCRU

Reacţiile au fost făcute pe baia de apă la fierbere, masa de reacţie avînd 75—78° la controlul făcut introducînd termometru în soluţie.

Metilatul de sodiu a fost preparat într-un exces de alcool metilic, astfel că s-a lucrat tot timpul cu soluţie de metilat de sodiu în alcool metilic care s-a adăugat dintr-o dată soluţiei de *p*-nitro-clorbenzen în alcool metilic, cu excepţia încercărilor făcute cu metilat de sodiu solid dizolvat în heptan.

Produşii de reacţie au fost separaţi prin antrenare cu vapori de apă. Supunînd masa de reacţie alcalină, obţinută la sfîrşitul fiecărei sinteze, antrenării cu vapori de apă s-a izolat *p*-nitro-clorbenzenul nereacţionat şi *p*-nitro-anisolul (I) format. În restul neantrenat cu vapori rămîne ca substanţă solidă *p*, *p'*-diclorazoxibenzenul (II) sau *p*, *p'*-azoxianisolul (III), respectiv un amestec al celor doi produşi care au putut fi separaţi şi identificaţi după purificare prin recristalizări repetate. În soluţia rămasă neantrenată cu vapori de apă s-a izolat şi identificat *p*-nitro-fenolul (IV) care împreună cu *p*-nitro-clorbenzenul nereacţionat compensează în bună parte diferenţele randamentelor date în tablouri.

Toţi produşii de reacţie au fost identificaţi prin solubilităţi, comportări chimice diferite, precum şi prin punctele de topire. Subliniem faptul că *p*, *p'*-azoxianisolul este foarte uşor de recunoscut datorită proprietăţii sale caracteristice de a da cristale lichide între 117,5 şi 134°.

CONCLUZII

Din studiul acţiunii hidroxizilor alcalini metilalcoolici asupra *p*-nitroclorbenzenului (mol la mol) rezultă că se obţin randamente maxime în *p*-nitranisol (I) la o durată de încălzire de 6—12 ore pe baia de apă la fierbere. În

literatură [4] și [9] se arată că pentru a ajunge la același randament este nevoie de un timp de încălzire de peste 150 de ore la temperatura de 70°.

Din studiul acțiunii metilatului de sodiu asupra *p*-nitro-clorbenzenului rezultă că reacția are loc foarte repede deoarece chiar numai după un sfert de oră de încălzire pe baia de apă la fierbere se obține *p*-nitranisol (I) cu randament de 58 %, iar după jumătate de oră randamentul este de 60%. Prin fierbere timp de o oră se obține 66 % *p*-nitranisol (I) dar randamentul scade la o fierbere mai îndelungată fiindcă *p*-nitranisolul format este redus la *p*, *p'*-azoxianisol (III), așa încît după 24 de ore de încălzire nu mai există decît jumătate din *p*-nitranisolul format inițial.

Mersul reacției este cu totul contrar celui din reacția cu KOH sau NaOH metilalcoolic, cînd într-o oră nu se formează aproape nimic și abia prin încălzire timp de peste 6 ore se obține *p*-nitranisol cu randamente bune. Pe de altă parte în cazul hidroxizilor metilalcoolici reacția de reducere are loc în mult mai mică măsură și numai asupra *p*-nitro-clorbenzenului care este transformat în *p*, *p'*-diclorazoxibenzen (II), după 24 de ore de încălzire, prin reducerea grupării nitro înainte ca halogenul să fie substituit cu gruparea metoxil.

În cazul metilatului de sodiu atît reacția de substituție cît și reacția de reducere sînt mult mai intense, ceea ce face ca *p*, *p'*-diclorazoxibenzenul să se formeze chiar după un sfert de oră de fierbere. Cantitatea de produs de reducere crește cu timpul. După 6 ore de reacție, alături de *p*, *p'*-diclorazoxibenzen (II) apare și *p*, *p'*-azoxianisol (III), în cantitate crescîndă, care după 24 de ore de încălzire ajunge să fie produsul principal al reacției alături de tot mai puțin *p*-nitranisol (I) și nici urmă de *p*, *p'*-diclorazoxibenzen (II).

Așadar, în condițiile noastre de lucru are loc substituirea și la produsul obținut prin reducere căci *p*, *p'*-diclorazoxibenzenul (II) se transformă integral în *p*, *p'*-azoxianisol (III).

Din încercările făcute s-a putut preciza influența cantității de alcoolmetilic asupra dirijării reacției spre reducere sau substituție și anume păstrînd același raport molar între sodiu și *p*-nitro-clorbenzen; mărind însă cantitatea de alcool metilic, predomină reacția de substituție.

Reacția de substituție este favorizată de asemenea de micșorarea cantității de metilat de sodiu față de cantitatea de *p*-nitro-clorbenzen.

Catedra de chimie organică,
Universitatea «Victor Babeș», Cluj

Prezentat la redacție la data de 30 aprilie 1955

ДЕЙСТВИЕ АЛКОГОЛЯТОВ НА ГАЛОИДНЫЕ АРОМАТИЧЕСКИЕ НИТРОПРОИЗВОДНЫЕ (I)

(ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛСПИРТОВЫХ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРООКИСЕЙ И МЕТИЛАТА НАТРИЯ НА *P*-НИТРОХЛОРБЕНЗОЛ)

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Метилспиртовые щелочные гидроокиси, действуя на *p*-нитрохлорбензол в продолжении 6—12 часов на кипящей водяной ванне, молекула на молекулу, замещают галоид с функцией метокси, причем получается *p*-нитранизол (1) с выходом 88%.

Метилспиртовый метилат натрия действует на *p*-нитрохлорбензол, образуя в данных условиях работы как продукт восстановления — *p·p'*-дихлоразоксибензол (II), так и продукт замещения — *p*-нитранизол (I), а также продукт замещения и восстановления — *p·p'*-азоксианизол (III).

Оказалось возможным установить:

а) влияние количества метилового спирта,

б) влияние продолжительности нагревания и

в) влияние количества метилата натрия, по сравнению с количеством *p*-нитрохлорбензола, на ход реакции (восстановление или замещение).

При данных условиях работы *p·p'*-дихлоразоксибензол (II) полностью переходит в *p·p'*-азоксианизол (III) в зависимости от продолжительности нагревания; следовательно, замещение имеет место и у соединения, полученного путем восстановления.

Как в случае воздействия метилспиртовых щелочных гидроокисей, так и в случае воздействия метилспиртового метилата натрия на *p*-нитрохлорбензол, количества реагирующих веществ не влияют на выходы, при условии соблюдения одного и того же отношения между составляющими.

При 6-часовом воздействии на *p*-нитробромбензол метилата натрия в растворе метилового спирта на кипящей водяной ванне получается только *p·p'*-дибромазоксибензол; таким образом, здесь происходит лишь реакция восстановления.

L'ACTION DES ALCOOLATES SUR LES NITRODÉRIVÉS AROMATIQUES HALOGÉNÉS (I)

(ACTION DES HYDROXYDES ALCALINS MÉTHYLALCOOLIQUES ET DU MÉTHYLATE DE SODIUM SUR LE *P*-NITROCHLOROBENZÈNE)

(RÉSUMÉ)

Les hydroxydes alcalins méthylalcooliques, agissant sur le *p*-nitrochlorobenzène, mol à mol, au bain-marie bouillant, pendant 6 à 12 heures, substituent l'halogène avec la fonction méthoxy, en donnant du *p*-nitranisol (I) avec un rendement de 88 %.

Le méthylate de sodium méthylalcoolique agit sur le *p*-nitrochlorobenzène, en formant, dans les conditions de travail données, un produit de réduction — le *p, p'*-dichlorazoxybenzène (II)—ainsi qu'un produit de substitution — le *p*-nitranisol (I) — et un produit de substitution et de réduction — le *p, p'*-azoxyanisol (III).

On a pu préciser:

a) l'influence de la quantité d'alcool méthylique,

b) l'influence de la durée du chauffage,

c) l'influence de la quantité de méthylate de sodium par rapport à celle de *p*-nitrochlorobenzène, sur le sens de la réaction (vers la réduction ou vers la substitution).

Dans les conditions de travail données, le *p, p'*-dichlorazoxybenzène (II) se transforme intégralement en *p, p'*-azoxyanisol (III), en fonction du temps

de chauffage; donc, la substitution a également lieu dans le cas du produit obtenu par réduction.

Dans le cas de l'action des hydroxydes alcalins méthylalcooliques, ainsi que dans le cas de l'action du méthylate de sodium méthylalcoolique sur le *p*-nitrochlorobenzène, les quantités de substances qui réagissent n'influencent pas les rendements si on maintient le même rapport entre les composants.

Si le méthylate de sodium en solution d'alcool méthylique agit pendant 6 heures au bain-marie bouillant sur le *p*-nitrobromobenzène, on n'obtient que le *p*, *p'*-dibromazoxybenzène; la seule qui ait lieu est donc la réaction de réduction.

BIBLIOGRAFIE

1. I. Tănăsescu, M. Ionescu, Acad. R.P.R., Studii și cercetări de chimie, București, **I**, 19 (1953).
2. K. Heumann, Ber., **5**, 910. (1872).
3. A. Laubenheimer, Ber., **8**, 1621, (1875).
4. C. Willgerodt, Ber., **12**, 767 (1879); **14**, 2632 (1881); **15**, 1002 (1882).
5. L. Gattermann, A. Ritschke, Ber., **23**, 1738 (1890).
6. D. H. Richardson, Chem. Zentr., **1926**, **I**, 3139.
7. O. Matter, D.R.P. 386618; Chem. Zentr., **1924**, **I**, 2632.
8. * * * P. A. 1619368; Chem. Zentr., **1926**, **I**, 3362.
9. A. V. Blom, Helv. Chim. Acta, **IV**, 297, 1029 (1921).
10. * * * P. A. 1619368; Chem. Zentr., **1929**, **I**, 2694.
11. * * * P. A. 1875916; Chem. Zentr., **1933**, **I**, 675.
12. W. Davies-Down, Chem. Zentr., **1929**, **I**, 2639.
13. J. W. Brühl, Ber., **37**, 2076 (1904).
14. G. Briner Peter, I. Miller, Chem. Zentr., **1954**, 10, 914.

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

SINTEZA ŞI STUDIUL FIZICO-CHIMIC AL UNOR COMPUŞI ANION-ACTIVI *)

DE

SEVER PETRAŞCU şi MARGARETA MIHUŢESCU

INTRODUCERE

În combaterea ciupercilor, insectelor şi buruienilor dăunătoare culturilor agricole, eficienţa unui tratament depinde nu numai de toxicitatea substanţei utilizate pentru distrugerea organismului respectiv ci şi de realizarea unui contact intim şi persistent între substanţa toxică şi suprafaţa organelor vegetale sau animale.

În cazul tratamentelor cu lichide obţinerea unui astfel de contact este de multe ori deosebit de dificilă deoarece unele organe ale plantelor sau insectelor sînt acoperite cu ceară, chitină, şolzi sau peri, pe care apa nu le udă. În aceste cazuri este necesară adăugarea unei substanţe *tensio-active*, capabile să micşoreze tensiunea interfacială dintre apă şi corpul solid şi să producă *umectarea* suprafeţelor vegetale sau animale de către soluţiile, suspensiile şi emulsiile de insecticide, fungicide şi herbicide. O substanţă tensio-activă este cu atît mai adecvată scopului cu cît este capabilă să producă acest efect la o concentraţie mai mică.

Industria insecticidelor, fungicidelor şi herbicidelor foloseşte din ce în ce mai mult aceste substanţe auxiliare, care permit să se utilizeze mai raţional şi mai economic compuşii antiparazitari. Ele intră în compoziţia majorităţii preparatelor fitofarmaceutice, servind atît ca *agenţi de umectare*, cît şi ca *emulgători*, *adezivi* sau *coloizi protectori*; în ultimele cazuri substanţa joacă un rol mai complex.

Autorii şi-au propus să studieze compuşii tensio-activi din punctul de vedere al capacităţii de umectare, în perspectiva unor aplicaţii industriale ale preparatelor cu însuşiri optime.

COMPUŞI STUDIAŢI

Clasificarea recentă a compuşilor tensio-activi cuprinde următoarele categorii principale [1]:

1) compuşi anion-activi;
2) compuşi cation-activi;
3) compuşi neionogeni.

*) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R., din 30 iunie 1955.

Primei categorii îi aparțin produsele utilizate pe scara cea mai largă în practică. O mare extensiune a avut folosirea săpunurilor, dar din cauza precipitării lor de către ionii de calciu și magneziu din apele dure, ele au fost înlocuite tot mai mult cu alte produse mai rezistente la duritatea apei [2] și [3].

În cursul anilor 1952—1954 am studiat aproximativ 50 compuși anion-activi, dintre care majoritatea au fost preparați în laborator, restul fiind produse industriale. Clasificarea acestor substanțe precum și descrierea sumară a sintezei lor sînt date în cele ce urmează. Cele mai multe sinteze au fost efectuate după indicațiile găsite în tratatul lui H e f t e r - S c h ö n f e l d asupra grăsimilor [4].

În privința nomenclaturii compușilor anion-activi care conțin în moleculă două grupe acide diferite, carboxilică și sulfurică, trebuie să menționăm că am renunțat la o încercare de a stabili nume raționale și am adoptat denumirile empirice utilizate în industrie, bazate pe filiația chimică a compușilor, ceea ce permite o mai ușoară identificare a lor.

I. COMPUȘI CARBOXILICI

a. *Săpunuri*

Oleații și stearații de sodiu, potasiu, amoniu și trietanolamină au fost preparați prin reacția acizilor oleic și stearic (tehnici) cu bazele respective, la temperatura de 70—90°C. Hidroxizii alcalini au fost utilizați în soluție apoasă diluată.

b. *Naftenați*

Naftenații de sodiu, potasiu și trietanolamină au fost obținuți în același fel ca și săpunurile grase, plecînd de la acizi naftenici cu indicele de aciditate 250, purificați prin distilare la presiune redusă și avînd o culoare galbenă deschis.

c. *Rezinați*

Din colofoniu cu indicele de aciditate 188 au fost preparați *rezinații de sodiu, potasiu și trietanolamină*, prin procedee analoge celor menționate mai sus.

II. COMPUȘI ALCHIL-SULFURICI

Sînt esteri-săruri ale acidului sulfuric, cu formula generală $R-O-SO_3Na$, rezultînd din acțiunea acidului sulfuric concentrat asupra diferiților compuși alifatici cu catenă lungă. Nu pot fi înglobați în categoria compușilor « sulfonați », cum se mai face încă în mod greșit, deoarece nu conțin în moleculă grupa sulfonică; ei constituie o categorie aparte de compuși, pentru care în literatura mai nouă [1], [3] se folosește denumirea « compuși sulfatați ».

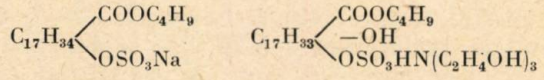
a. *Alcooli alifatici sulfatați* (produse de tipul Gardinol, Duponol etc). Prin reacția dintre alcoolul cetilic, dizolvat în eter de petrol, și acidul sulfuric concentrat, la temperatura ambiantă, s-a preparat sulfatul acid de cetil. După neutralizare cu bazele respective, s-au obținut *sulfatul de cetil și sodiu* (I) și *sulfatul de cetil și piridină* (II)

$$\underset{\text{(I)}}{C_{16}H_{33}-O-SO_3Na} \qquad \underset{\text{(II)}}{C_{16}H_{33}-O-SO_3\ (C_5H_5NH)}$$

b. *Esteri alifatici sulfatați* (produse de tipul Avirol etc.).

Acidul oleic a fost esterificat cu sulfat de butil, la o temperatură sub 5°C și apoi sulfatat la aceeași temperatură cu acid sulfuric concentrat, obținîndu-se

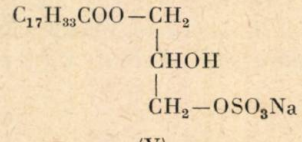
astfel *oleatul de butil sulfatat* (III). În aceleaşi condiţii din acidul ricinolic s-a preparat *ricinolatul de butil sulfatat* (IV). Din aceşti compuşi s-au preparat sărurile respective de sodiu şi de trietanolamină



(III) (IV)

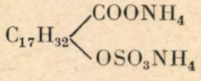
Acidul oleic a fost esterificat cu glicerină, prin încălzire la 150—170°, timp de 4 ore, în prezenţa acidului fosforic. Esterul, agitat cu acid sulfuric 100 %, la temperatura ambiantă, a dat *oleatul de gliceril sulfatat*, care a fost apoi transformat în sare de sodiu (V).

În mod analog s-au obţinut *stearatul şi naftenatul de gliceril sulfatat* şi sărurile respective



(V)

c. *Uleiuri (gliceride) sulfatate* (produse de tipul « ulei de roşu turcesc »). Uleiul de ricin sulfatat a fost preparat din ulei de ricin rafinat şi acid sulfuric concentrat, prin agitare la temperatura ordinară. După spălare cu soluţie saturată de sulfat de sodiu şi neutralizare cu carbonat de sodiu, respectiv cu hidroxid de amoniu, s-au obţinut *sulfo-ricinatul de sodiu*, respectiv cel de *amoniu* (VI)



(VI)

În afară de aceştia s-au mai luat în studiu cîteva produse tehnice ale fabricei SPIC: *sulforicinat de sodiu, ulei vegetal sulfatat* şi *ulei de rapiţă sulfatat.*

III. COMPUŞI SULFONICI

Sînt săruri ale acizilor alchil- sau aril-sulfonici, de tipul $R—SO_3Na$, conţinînd o grupă sulfonică veritabilă legată de un atom de carbon. Sînt stabile în limite largi de pH şi rezistă foarte bine la apele dure, deoarece sărurile corespunzătoare de calciu sînt solubile în apă.

a. *Alcooli alifatici sulfonaţi*

Alcoolul cetilic dizolvat în eter a fost tratat la 15—20°C cu acid clorsulfonic. Esterul sulfuric obţinut, neutralizat cu hidroxid de sodiu 50 %, prin reacţie la fierbere cu o soluţie concentrată de sulfit de sodiu, a dat *cetil-sulfonatul* de sodiu (VII)

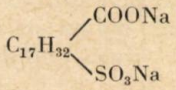
$$C_{16}H_{33}—O—SO_3Na + SO_3Na_2 = SO_4Na_2 + C_{16}H_{33}—SO_3Na$$

(VII)

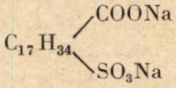
b. *Acizi alifatici sulfonați* (produse de tipul Intrasol ș.a.).

Acidul oleic a fost sulfonat, la o temperatură sub 20°C, cu acid clorsulfonic, iar produsul rezultat a fost spălat și neutralizat cu hidroxid de sodiu 50 %, obținîndu-se astfel *olein-sulfonatul de sodiu A* (VIII).

Utilizînd un amestec de acid sulfuric fumans (cu 20 % SO_3) și anhidridă acetică pentru a sulfona acidul oleic (sub 20°C) și acidul stearic (la 75°C), s-au obținut produse care, neutralizate cu lapte de var, filtrate și apoi tratate cu carbonat de sodiu au dat un *olein-sulfonat B* și un *stearin-sulfonat* de sodiu *) (IX)



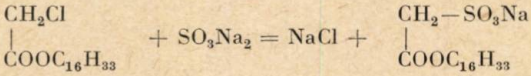
(VIII)



(IX)

c. *Esteri alifatici sulfonați*

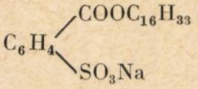
Alcoolul cetilic a fost esterificat cu acid monocloracetic, la 130°C în prezența acidului fosforic; prin fierberea monocloracetatului de cetil cu o soluție concentrată de sulfit de sodiu s-a obținut *sulfo-acetatul de cetil* ca sare de sodiu (X)



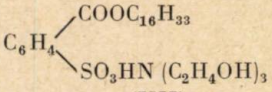
(X)

d. *Esteri alchil-aromatici sulfonați*

Alcoolul cetilic, în soluție petrol-eterică, a fost benzoilat cu clorură de benzoil în prezența pulberii de magneziu. Produsul tratat cu acid sulfuric fumans a dat *benzoatul de cetil sulfonat*, din care s-au preparat sărurile de sodiu și trietanol-amină (XI, XII)

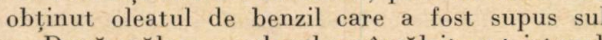


(XI)



(XII)

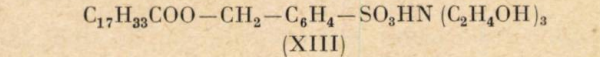
Din oleat de sodiu și clorură de benzil, prin încălzire la reflux în soluție alcoolică, s-a obținut oleatul de benzil care a fost supus sulfonării cu acid sulfuric fumans. După spălare, produsul s-a încălzit cu trietanolamină, pentru a obține sarea respectivă a *oleatului de benzil sulfonat* (XIII)



(XIII)

Acidul oleic a fost esterificat cu crezol tehnic, în prezența acidului fosforic la 110—120°C, iar produsul a fost sulfonat cu acid sulfuric fumans la 110°. Din acest *oleat de crezil sulfonat* (XIV) s-au preparat sărurile de sodiu și de trietanolamină.

În mod asemănător a fost preparat *ricinolatul de crezil sulfonat* (XV) și sărurile respective de sodiu și trietanolamină



(XIV) (XV)

*) Din punctul de vedere al studiului însușirilor fizico-chimice numele acestea trebuie preferate acelora de *sulfo-oleat* și *sulfo-stearat*, deoarece grupa sulfonică este mai acidă decît carboxilul și de ea depind mai ales aceste însușiri.

e. *Alchil-aril-sulfonați*

Acizii β-sulfonici (mahagoni) solubili în ulei, formați prin acțiunea acidului sulfuric fumans (cu 20 % anhidridă liberă) asupra unei motorine asfaltoase sau a unui ulei spindel, la temperaturi sub 50°C, după extracție din faza uleioasă cu etanol cald și neutralizare cu hidroxid de sodiu 50 %, au dat alchil-aril-sulfonați de sodiu (pe care i-am notat cu literele *M* și *U*). Prin titrare s-a găsit o greutate moleculară medie de circa 640 pentru acizii sulfonici din motorină și de circa 500 pentru aceea din uleiul spindel.

Compuși analogi, sub forma de sare de amoniu cu 20—25 % apă, conține produsul tehnic numit *detergent Vega*. Și acest produs a fost supus cercetării deoarece el este folosit tot mai mult în fabricarea insecto-fungicidelor. Autorii au preparat din detergentul Vega sarea de sodiu anhidră a acizilor sulfonici respectivi și acest *alchil-aril-sulfonat de sodiu* (V) a fost de asemenea studiat.

Date amănunțite asupra structurii chimice a acizilor sulfonici, formați prin sulfonarea fracțiunilor de petrol, se găsesc în lucrările lui P i l a t [5] și S p e r l i n g [6].

Prof. dr. V î n t u de la Institutul de petrol și gaze a pus la dispoziția autorilor cîteva probe de *mersolați* pentru a fi încercați ca substanțe tensioactive.

A mai fost luat în studiu și *dibutilnaftalen-sulfonatul de sodiu* (XVI), un produs de tipul *Nekal*, fabricat sub acest nume de întreprinderea SPIC și folosit de cîțiva ani în practica fitoterapeutică.

$$C_{10}H_5(C_4H_9)_2SO_3Na$$
(XVI)

Compușii alchil-sulfurici și sulfonici, sintetizați în laborator, au fost purificați prin extracție cu alcool, acetonă, sau benzen, urmînd apoi filtrarea soluției pentru a îndepărta sărurile minerale și distilarea solventului. Uleiurile sulfatate tehnice au fost purificate prin centrifugare.

STUDIU FIZICO-CHIMIC

După cum se știe, la contactul unui lichid cu un solid, cum este de exemplu acela dintre picăturile unei soluții insecticide, fungicide sau herbicide și suprafața organismelor vegetale sau animale, intervine un fenomen complex, dirijat îndeosebi de forțele capilare [2], [3], [7], [8] și [9].

În primul moment se produce *umectarea* solidului de către lichid, care constă în formarea unei interfețe stabile lichid/solid. Aria de extensiune a unei picături pe suprafața solidă depinde de *tensiunea superficială lichid/aer* σ_l, *tensiunea superficială solid/aer* σ_s și *tensiunea interfacială lichid/solid* σ_i. La linia de contact suprafața picăturii și suprafața corpului solid formează un unghiu Θ numit *unghi de contact* (unghi de racord, unghi marginal). În cazul unei umectări imperfecte, între cele trei tensiuni există un echilibru exprimat prin relația lui Young

$$\sigma_s = \sigma_i + \sigma_l \cos \Theta \qquad (1)$$

Dacă primul membru al acestei ecuații este mai mare decît al doilea, lichidul se întinde — se etalează — pe suprafața solidă pînă ce se realizează echilibrul. Dacă umectarea este perfectă, unghiul de contact este zero ($\cos \Theta = 1$) iar lichidul se etalează indefinit.

Coeficientul de etalare definit de către Harkins prin expresia:

$$C = \sigma_s - (\sigma_i + \sigma_l) \tag{2}$$

este o mărime care permite să se aprecieze capacitatea de umectare și etalare a unui lichid pe o suprafață solidă sau pe una lichidă (în cazul a două lichide nemiscibile).

Din ecuațiile (1) și (2) se deduce o altă expresie pentru coeficientul de etalare:

$$C = \sigma_l (\cos \Theta - 1). \tag{3}$$

Această relație a fost utilizată de Wilcoxon și Hartzell [10] pentru determinarea însușirilor tensio-active ale unor lichide.

Deoarece măsurarea unghiului de contact prezintă dificultăți tehnice, diferiți cercetători au căutat să determine coeficientul de etalare cu ajutorul relației lui Harkins. Fiindcă tensiunea superficială a solidelor și tensiunea interfacială lichid/solid sînt practic nedeterminabile, se utilizează în locul suprafeței solide un lichid nemiscibil cu lichidul studiat. Metoda a fost precizată și aplicată în mod larg de către Cupples [11], care întrebuințează un ulei mineral cu un înalt grad de rafinare. Valorile astfel obținute reprezintă capacitatea de umectare a lichidelor studiate pentru suprafețele greu umectabile de către apă, cum sînt de exemplu suprafețele ceroase și chitinoase ale organelor vegetale și animale.

Coeficientul de etalare nu exprimă totalitatea fenomenelor care se petrec la stropirea plantelor cu diferitele lichide antiparazitare. Coeficientul se calculează pe baza unor valori statice, dar în procesul de stropire intervin valori dinamice; un rol considerabil joacă de asemenea și fenomenele electrostatice. Totuși, pentru studiul comparativ al agenților de umectare, în lipsa unei relații mai generale, determinarea coeficientului de etalare prezintă o deosebită importanță deoarece permite să se efectueze un control obiectiv și o selecționare rapidă prin metode de laborator a unui număr mare de substanțe.

Autorii acestei Comunicări au făcut uz de metoda Cupples pentru a studia capacitatea de umectare a compușilor luați în studiu. Ca substanță de referință am folosit un ulei mineral rafinat cu următoarele caracteristice:

Densitate	$d_{20}^{20} = 0{,}8677$
Viscozitate	$V_{20} = 71{,}9$ centistokes
Tensiune superficială	$\sigma_{20} = 29{,}78$ dyne/cm
Punct de congelare	+ 1°C
Punct de anilină	100,5°C

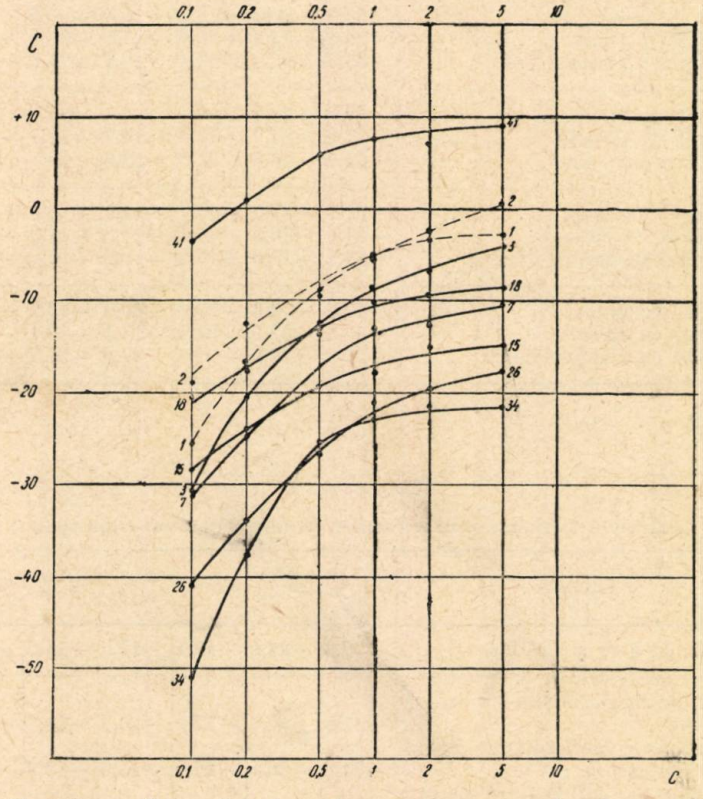
Din compușii tensio-activi am preparat soluții apoase în șase concentrații crescătoare: 0,1—0,2—0,5—1—2—5 %. Numai primele două sau trei concentrații sînt utilizate în practică; celelalte au fost luate în considerație pentru a se observa variția coeficienților de etalare cu creșterea concentrației. Concentrațiile se raportează la substanța anhidră, indiferent de eventualul conținut în apă al preparatului. Cîteva din soluțiile mai concentrate, preparate la cald, se transformă la temperatura ordinară în geluri, astfel că în aceste cazuri nu s-au putut executa măsurători. Unele din substanțele sintetizate nefiind solubile în apă nu au putut fi studiate din punct de vedere fizico-chimic.

Determinarea tensiunilor superficiale și interfaciale s-a efectuat cu un stalagmometru Traube, la temperatura ambiantă a laboratorului, între 20 și 22°C. Am etalonat stalagmometrul cu apă distilată, iar tensiunea superficială

a soluţiilor (σ_l) am calculat-o cu ajutorul formulei următoare, dedusă din legea lui Tate:

$$\sigma_l = K \frac{\nu \cdot d}{n}, \qquad (4)$$

în care, d = densitatea soluţiei, n = un număr întreg de picături dat de stalagmometru, iar ν = volumul exact corespunzător acestui număr. Constanta aparatului K, se obţine din valorile corespunzătoare pentru apa distilată.



Variaţia coeficientului de etalare a unor compuşi anion-activi în funcţie de concentraţie.

C = coeficientul de etalare în dyne/cm.
c = concentraţia în % (reprezentată prin log c).
— — — etaloane.

Tensiunea superficială a apei la 20°C este 72,8 dyne/cm, după datele din tratatul lui Freundlich [9].

Pentru calcularea tensiunii interfaciale (σ_i) a unei soluţii faţă de uleiul mineral de referinţă, am determinat mai întîi tensiunea interfacială apă/ulei (σ_u) în raport cu tensiunea interfacială apă/benzen (σ_b), a cărei valoare, după Harkins şi Cheng (citat după [9]), este 35 dyne/cm. Pentru σ_u am găsit valoarea 51,10 dyne/cm. Determinarea valorilor respective în cazul soluţiilor studiate s-a efectuat apoi lăsînd să cadă un număr n' de picături de soluţie în uleiul mineral şi determinînd volumul ν' corespunzător. Cunoscînd densitatea

Tabloul nr. 1

Coeficientul de etalare al unor compuşi carboxilici şi al produselor utilizate ca etalon de referinţă (în soluţii apoase)

Nr.	Compus	0,1 %	0,2 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %	Obs.
1	Sandovit	−25,6	−16,4	− 8,8	− 5,0	− 2,8	− 2,7	Etalon
2	Rapidnetzer Spezial	−19,1	−12,5	− 9,4	− 5,3	− 2,4	+ 0,8	Etalon
3	oleat de sodiu	−30,8	−20,4	−12,4	− 8,6	− 6,5	− 4,0	*
4	oleat de potasiu	−26,9	−27,4	−28,0	−27,8	−27,6	−27,1	*
5	oleat de trietanolamină	−25,5	−25,6	−23,4	−18,1	−13,6	−12,1	*
6	stearat de sodiu	−43,6	−25,6	gel	gel	gel	gel	
7	stearat de potasiu	−31,3	−24,9	−13,2	−13,2	−12,4	−10,5	
8	stearat de amoniu	−64,9	−48,0	−31,0	−23,6	gel	gel	
9	naftenat de sodiu	−47,1	−37,0	−25,7	−14,4	− 9,0	− 7,0	
10	naftenat de potasiu	−54,6	−40,1	−31,1	−27,8	−11,9	− 8,7	
11	naftenat de trietanolamină	−23,1	−18,0	−13,2	− 8,9	− 7,2	− 5,3	*
12	rezinat de sodiu	−40,6	−34,8	−25,0	−20,0	−15,2	−10,0	
13	rezinat de potasiu	−39,5	−32,5	−24,4	−17,1	−13,1	− 8,2	
14	rezinat de trietanolamină	−25,9	−25,6	−27,8	−27,8	−27,7	−27,2	*

Tabloul nr. 2

Coeficientul de etalare al unor compuşi alchil-sulfurici (în soluţii apoase)

Nr.	Compus	0,1 %	0,2 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %	Obs.
15	sulfat de cetil şi piridină	−28,3	−24,0	−19,4	−17,8	−14,9	−14,9	*
16	oleat de butil sulfatat ca sare de sodiu	−24,5	−19,2	−17,2	−16,3	−14,7	−14,5	*
17	ricinolat de butil sulfatat ca sare de sodiu	−34,2	−26,7	−17,0	−15,0	−15,3	−14,6	
18	ricinolat de butil sulfatat ca sare de trietanolamină	−20,6	−17,8	−12,9	−10,1	− 9,6	− 8,5	*
19	oleat de gliceril sulfatat ca sare de sodiu	−44,4	−35,7	−30,2	−25,3	−25,3	−20,4	
20	stearat de gliceril sulfatat ca sare de sodiu	−90,9	−56,0	−46,4	−45,1	gel	gel	
21	naftenat de gliceril sulfatat ca sare de sodiu	−37,2	−31,2	−18,4	− 5,8	− 4,4	− 3,7	*
22	naftenat de gliceril sulfatat ca sare de potasiu	−23,1	−16,9	−11,7	− 6,3	− 4,7	− 3,4	*
23	sulforicinat de amoniu	−23,8	−18,0	−13,7	−11,1	− 9,3	(*i*)	*
24	ulei vegetal sulfatat (tehnic)	−35,7	−25,1	−17,4	−14,3	−13,9	−12,0	
25	ulei de rapiţă sulfatat (tehnic)	−49,7	−45,6	−27,5	−21,5	−19,0	−13,0	

(*i*) = Cantitate insuficientă de substanţă pentru a prepara soluţii concentrate.

uleiului mineral ($d_u = 0{,}8677$), tensiunea interfacială soluție/ulei poate fi calculată cu formula:

$$\sigma_i = k' \frac{\nu'}{n'} (d - d_u). \tag{5}$$

Coeficienții de etalare au fost calculați cu ajutorul expresiei (2), în care s-a introdus pentru σ_s valoarea 29,78 dyne/cm, iar pentru σ_l și σ_i valorile găsite experimental. Rezultatele sînt trecute în tablourile nr. 1, 2 și 3; coeficienții de etalare sînt exprimați în dyne/cm.

Tabloul nr. 3

Coeficientul de etalare al unor compuși sulfonici (în soluții apoase)

Nr.	Compus	0,1 %	0,2 %	0,5 %	1 %	2 %	5 %	Obs
26	cetil-sulfonat de sodiu	−41,0	−33,7	−26,5	−21,2	−19,6	−17,7	
27	olein-sulfonat de sodiu *A* . . .	−36,2	−25,2	−18,7	−16,6	−14,7	−12,4	
28	olein-sulfonat de sodiu *B* . . .	−80,2	−78,9	−78,4	−74,6	−60,1	−48,7	
29	stearin-sulfonat de sodiu	−88,7	−83,9	−86,8	−87,4	−88,8	−67,3	
30	sulfo-acetat de cetil ca sare de sodiu	−50,3	−43,0	−37,1	−31,5	−27,1	gel	
31	benzoat de cetil sulfonat ca sare de sodiu	−28,1	−27,1	−22,4	−20,8	−18,5	ppt	*
32	benzoat de cetil sulfonat de sare de trietanolamină	−27,3	−20,3	−18,2	−15,9	−15,7	−14,8	*
33	oleat de benzil sulfonat ca sare de trietanolamină	−54,2	−45,1	−28,9	−22,6	−20,4	−16,9	
34	oleat de crezil sulfonat ca sare de sodiu	−51,2	−37,7	−25,7	−23,0	−21,5	−22,0	
35	oleat de crezil sulfonat ca sare de trietanolamină	−40,4	−40,1	−32,4	−25,4	−21,9	−20,3	
36	ricinolat de crezil sulfonat ca sare de sodiu	−34,9	−29,5	−20,7	−22,1	−22,5	−22,8	
37	ricinolat de crezil sulfonat ca sare de trietanolamină	−19,9	−17,2	−17,1	−17,0	−16,8	−15,6	*
38	alchil-aril-sulfonat de sodiu *M* (din motorină)	−29,7	−26,1	−26,0	−13,8	−12,7	−10,5	*
39	alchil-aril-sulfonat de sodiu *U* (ulei spindel)	−26,2	−20,2	−17,0	−14,2	−12,1	− 9,5	*
40	alchil-aril-sulfonat de amoniu (detergent Vega)	−48,3	−34,3	−22,8	−16,3	−12,9	−10,5	
41	alchil-aril-sulfonat de sodiu *V* (din detergent Vega)	− 3,4	+ 1,0	+ 5,9	+ 7,7	+ 7,1	+ 9,5	*
42	mersolat *A*	−35,1	−26,9	−20,0	−12,2	(*i*)	(*i*)	
43	mersolat *B*	−58,6	−50,2	−33,2	−19,6	(*i*)	(*i*)	
44	mersolat *C*	−18,6	−13,6	−12,8	−10,9	(*i*)	(*i*)	*
45	mersolat *D*	−57,5	−37,4	−19,9	−12,2	(*i*)	(*i*)	
46	dibutil-naftalen-sulfonat de sodiu (Nekal)	−29,9	−22,4	−11,9	−11,1	−11,3	− 9,4	*

(*i*) = Cantitate insuficientă de substanță pentru a prepara soluții concentrate.

În majoritatea cazurilor coeficienții de etalare au valori negative și cresc cu concentrația soluțiilor. În figură se văd cîteva curbe caracteristice, reprezentînd variația coeficienților de etalare în funcție de concentrație (figurată în scară logaritmică).

Ca termeni de comparație pentru aprecierea capacității de umectare a compușilor studiați s-au luat două produse comerciale a căror eficiență a fost verificată prin experimentare în practică, și anume Sandovit (Sandoz) și Rapidnetzer Spezial (BASF). S-au determinat și coeficienții de etalare ai acestor preparate etalon, iar valorile lor sînt trecute în tabloul nr. 1.

DISCUȚIE

Examinînd valorile numerice din tablouri, se constată că substanțele etalon posedă coeficienți de etalare ridicați chiar și la concentrațiile mici, care interesează în aplicațiile practice. Dintre compușii studiați, unii prezintă valori foarte apropiate de ale etaloanelor și curbe analoge; ei pot fi considerați ca acceptabili din punctul de vedere al capacității de umectare. În acest grup se găsesc următorii compuși (însemnați în tablouri printr-un asterisc): oleații de sodiu, potasiu și trietanolamină, naftenatul și rezinatul de trietanolamină, sulfatul de cetil și piridină, oleatul de butil sulfatat ca sare de sodiu, ricinolatul de butil sulfatat ca sare de trietanolamină, naftenatul de gliceril sulfatat ca săruri de sodiu și de potasiu, sulforicinatul de amoniu, benzoatul de cetil sulfonat ca săruri de sodiu și de trietanolamină, ricinolatul de crezil sulfonat ca sare de trietanolamină, alchil-aril-sulfonații de sodiu, unul dintre mersolați și dibutil-naftalen-sulfonatul de sodiu.

În total 19 preparate au fost găsite corespunzătoare criteriului fizico-chimic de apreciere a calității unui agent de umectare. Ele sînt supuse în prezent unor experimentări practice, în amestecuri cu produse fungicide și insecticide.

Restul de 27 compuși sintetizați în laborator sau fabricați industrial nu satisfac criteriul amintit și nu au fost luați în considerație.

Autorii și-au dirijat acum atenția asupra compușilor cation-activi, propunîndu-și să sintetizeze și din această categorie cîteva substanțe în vederea unui studiu fizico-chimic asemănător celui efectuat în cazul compușilor anion-activi.

CONCLUZII

În Comunicarea de față autorii expun rezultatele experimentale ale studiului întreprins asupra unor compuși anion-activi, cu scopul de a stabili capacitatea lor de umectare a suprafețelor hidrofuge, în vederea utilizării ca substanțe tensio-active în preparatele antiparazitare.

Au fost sintetizate 39 substanțe. Dintre acestea 36, împreună cu 4 mersolați primiți de la Institutul de petrol și gaze, și cu 4 produse industriale, au fost supuse unei cercetări fizico-chimice, cuprinzînd determinarea coeficienților de etalare prin metoda descrisă de C u p p l e s.

Din compararea valorilor acestor coeficienți cu două preparate străine verificate în practică, rezultă că 19 din compușii studiați sînt acceptabii pentru experimentarea pe teren ca agenți de umectare.

Cercetările continuă asupra compușilor cation-activi.

Institutul de Cercetări agronomice,
Laboratorul de fungicide-insecticide,
București

Prezentat la redacție la 14 iulie 1955

СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СОЕДИНЕНИЙ С АКТИВНЫМИ АНИОНАМИ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В настоящем сообщении авторы излагают экспериментальные результаты исследования некоторых соединений с активными анионами, с целью установления их способности смачивать гидроизоляционные материалы в виду использования в качестве тензиоактивных веществ для противопаразитных препаратов.

Было синтезировано 39 веществ, принадлежащих к следующим классам химических соединений с активными анионами:

— *Карбоксильные соединения:* олеаты, стеараты и резинаты натрия, калия и триэтаноламина, а также стеарат аммония.

— *Алкилсерные соединения:* сернокислый цетил и натрий, сернокислый цетил и пиридин, сульфатированный олеат бутила, сульфатированный рицинолат бутила, сульфатированные олеат, стеарат и нафтенат глицерила, сульфорицинат натрия и аммония.

— *Сульфосоединения:* цетилсульфонат натрия, олеин- и стеаринсульфонат натрия, сульфоацетат цетила, сульфобензоат цетила, сульфоолеат бензила, сульфоолеат и сульфорицинолат крезила, алкиларилсульфонат натрия из дизтоплива и алкиларилсульфонат натрия из веретенного масла.

Из вышеупомянутых соединений 36, растворимых в воде, были подвергнуты физико-химическому исследованию, совместно с четырьмя мерсолатами, полученными из Института нефти и газов, и совместно с 4 техническими препаратами: 2 сульфатированных растительных масла, дибутилнафталенсульфонат натрия (некал) — препарат отечественной химической промышленности и алкиларилсульфонат аммония, изготовленный румынской нефтяной промышленностью под названием «очиститель Вега».

Для сравнения в виду определения смачивающей способности рассматриваемых соединений было взято два коммерческих препарата, эффективность которых была проверена на практике, а именно: сандовит (сандоз) и рапиднетцер специал (БАСФ).

Смачивающая способность всех этих соединений в водных растворах 0,1 —0,2 —0,5 —1 —2 —5% была определена методом, предложенным Кэпльсом. Было определено при помощи сталагмометрического метода поверхностное натяжение растворов (σ_l), а также их интерфациальное натяжение (σ_i) по отношению к очищенному минеральному маслу (с поверхностным натяжением σ_s). На основе этих данных были вычислены коэффициенты эталонирования растворов при помощи формулы Харкинса:

$$C = \sigma_s - (\sigma_i + \sigma_l).$$

Путем сравнения полученных значений было обнаружено, что 19 из исследуемых веществ являются годными для испытания на местах в качестве смачивающих агентов.

Исследования продолжаются над соединениями с активными катионами.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Изменение коэффициента распределения соединений с активными анионами в зависимости от концентрации. C — коэффициент распределения в динах/см. c — концентрация в % (представленная log c). - - - эталоны.

SYNTHÈSE ET ÉTUDE PHYSICO-CHIMIQUE DE CERTAINS COMPOSÉS TENSIO-ACTIFS ANIONIQUES

(RÉSUMÉ)

Dans la Communication qui suit, les Auteurs exposent les résultats expérimentaux de l'étude entreprise sur certains composés tensio-actifs anioniques, dans le but d'établir leur capacité de mouiller les surfaces hydrofuges et de les utiliser comme substances tensio-actives dans les produits parasiticides.

On a synthétisé 39 substances appartenant aux classes suivantes de composés chimiques anioniques:

— *Composés carboxyliques:* oléates, stéarates, naphténates et résinates de sodium, potassium et de triéthanolamine, ainsi que le stéarate d'ammonium.

— *Composés alkyl-sulfuriques:* sulfate de cétyle et de sodium, sulfate de cétyle et de pyridine, oléate de butyle sulfaté, ricinoléate de butyle sulfaté, oléate, stéarate et naphténate de glycéryle sulfaté, sulforicinate de sodium et d'ammonium.

— *Composés sulfoniques:* cétyle-sulfonate de sodium, oléine- et stéarine-sulfonate de sodium, sulfoacétate de cétyle, benzoate de cétyle sulfoné, oléate de benzyle sulfoné, oléate et ricinoléate de crésyle sulfoné, un alkyl-aryl-sulfonate de sodium preparé par la sulfonation de l'huile solaire et un alkyl-aryl-sulfonate de sodium preparé par la sulfonation de l'huile «spindel».

Trente-six de ces composés, solubles dans l'eau, ont été soumis à une étude physico-chimique, en même temps que quatre mersolates, reçus de la part de l'Institut du Pétrole et des Gaz, et quatre produits techniques: deux huiles végétales sulfatées, un dibutyl-naphtalène-sulfonate de sodium (Nékal), produit de l'industrie chimique roumaine, et un alkyl-aryl-sulfonate d'ammonium, fabriqué par l'industrie pétrolière sous le nom de «détergent Véga».

Comme terme de comparaison pour apprécier le pouvoir mouillant des composés étudiés, on a choisi deux produits commerciaux, dont l'efficacité avait été vérifiée en pratique, notamment le Sandovit (Sandoz) et le Rapidnetzer Spezial (BASF).

Le pouvoir mouillant de tous ces composés, en solutions aqueuses de 0,1 — 0,2 — 0,5 — 1 — 2 — 5 % a été établie par la méthode préconisée par Cupples. On a mesuré, par la méthode stalagmométrique, la tension superficielle des solutions (σ_l) et leur tension interfaciale (σ_i) à l'égard d'une huile minérale raffinée (de tension superficielle σ_s). Partant de ces données, on a calculé les coefficients d'étalement des solutions à l'aide de la formule de Harkins:

$$C = \sigma_s - (\sigma_i + \sigma_l).$$

En comparant les valeurs obtenues, on a trouvé que 19 des substances étudiées sont susceptibles d'être expérimentées en pratique en tant qu'agents mouillants.

Les recherches continuent sur les composés tensio-actifs cationiques

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Variation du coefficient d'étalement de certains composés tensio-actifs anioniques, en fonction de la concentration. C = coefficient d'étalement, exprimé en dynes/cm. c = concentration, exprimée en % (représentée par log c). Tirets = étalons.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * *Emulsion Technology.* Chemical Publishing Co., Brooklyn, New York, 1946.
2. R. Fabre, J. Raoul, *Manuel de Phytopharmacie.* Masson, Paris, **III**, 1949.
3. H. Martin, *The Scientific Principles of Plant Protection.* Arnold, Londra, ed. 3, 1940–1948.
4. Hefter-Schönfeld, *Chemie und Technologie der Fette und Fettprodukte. Verarbeitung und Anwendung der Fette,* **II**, 1937, *Seifen und seifenartige Stoffe,* **IV**, 1939, Springer, Viena.
5. S. von Pilat, J. Sereda, W. Szankowski, Petroleum Z., **29**, 1, (1933); **31**, 1 (1935).
6. R. Sperling, Ind. Eng. Chem., **40**, 890 (1948).
7. H. Alexander, *Colloid Chemistry. Principles anp Applications.* Chapman & Hall, Londra, ed. 4, 1937.
8. A. V. Dumanski, *Coloizii.* Ed. de stat, Bucureşti, 1949.
9. H. Freundlich, *Kapillarchemie.* Akad. Verl., Leipzig, **I**, 1930.
10. F. Wilcoxon, A. Hartzell, Cont. Boyce Thompson Inst., **3**, 1 (1931).
11. H. L. Cupples, Ind. Eng. Chem., **27**, 1219 (1935); **28**, 60 (1936); **29**, 924 (1937); J. Econ. Ent. **31**, 68 (1938).

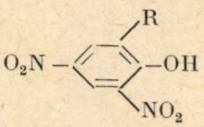
STUDII ȘI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

O METODĂ COLORIMETRICĂ PENTRU DETERMINAREA DINITRO-FENOLILOR *)

DE

SEVER PETRAȘCU și ELVIRA GROU

Încă din 1892 a început să fie întrebuințat dinitro-*o*-crezolul ca fungicid pentru conservarea lemnului și ca insecticid. După 1920 o serie de cercetători au pus în evidență toxicitatea dinitro-fenolilor pentru insecte și au arăta, posibilitatea utilizării ca insecticide de contact și de ingestie a dinitro-fenolului dinitro-*o*-crezolului și a altor 4,6-dinitro-2-alchil-fenoli, cu formula generală



în care R este un radical alchilic sau cicloalchilic, de exemplu metil, butil, amil, ciclohexil etc. [1], [2]. [3] și [4].

În ultimii ani dinitro-*o*-crezolul (DNOC) s-a folosit pe scară tot mai mare în tratamentele de iarnă ale pomilor precum și ca herbicid. Mult mai activ ca herbicid este însă dinitro-sec-butil-fenolul (DNBF), care a fost introdus recent în practica protecției plantelor [5] și [6].

Necesitatea de a efectua controlul chimic al produselor insecticide și herbicide, care conțin ca substanță activă unul din acești dinitro-fenoli, impune adoptarea unei metode analitice precise și aplicabile în toate cazurile. Produsele menționate se prezintă în forme foarte variate: pulberi, paste, soluții în dizolvanți organici și emulsii cu ulei mineral.

Pentru determinarea dinitro-*o*-crezolului în aceste preparate sînt indicate două metode în literatura de specialitate.

Metoda titrimetrică Knecht-Hibbert [7] și [8] se bazează pe reducerea grupelor nitro în amino cu triclorură de titan, excesul de reactiv fiind apoi retitrat cu alaun feric în prezența tiocianatului de amoniu. Din cauza marii oxidabilități a triclorurii de titan sînt necesare precauții deosebite la păstrarea reactivului și la efectuarea titrării. Metoda nu este potrivită decît pentru analizele în serie, cum sînt cele efectuate zilnic la fabricile producătoare.

*) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R., din 30 iunie 1955.

Metoda colorimetrică Fischer [7] și [9] utilizează o reacție specifică a dinitro-fenolilor care au o grupare nitro în poziția *orto* față de hidroxil, și anume formarea unor săruri colorate ale acizilor purpurici, sub acțiunea cianurii de potasiu [10]. Un mare inconvenient al acestei metode este necesitatea de a lucra cu soluții concentrate de cianură (40%), extrem de toxice și foarte nestabile; apoi însăși cianura de potasiu solidă se descompune cu timpul, astfel că probele vechi din acest reactiv pot duce la erori analitice mari.

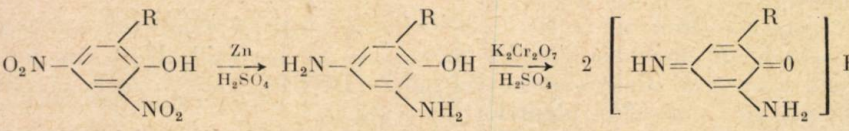
În privința determinării dinitro-sec-butil-fenolului nu se găsește în literatură nici o mențiune specială. Ea poate fi efectuată în principiu prin aceleași metode ca și determinarea dinitro-*o*-crezolului.

Ambele metode indicate mai sus au fost utilizate de autorii acestei lucrări pentru controlul chimic al preparatelor cu DNOC, în Laboratorul de fungicide-insecticide al Institutului de cercetări agronomice. În general s-a preferat metoda colorimetrică, mult mai simplă în execuție decît cea titrimetrică. Metoda Fischer a dat rezultate bune la toate preparatele solubile în apă, pulberi sau paste. Aplicarea ei în cazul preparatelor emulsionabile, cu un conținut de ulei mineral, nu a mai fost atît de satisfăcătoare, rezultatele fiind mult prea mici, ceea ce se poate explica prin influențarea reacției de către uleiul mineral. Metoda Knecht-Hibbert întîmpină de asemenea inconveniente analoge în aceste cazuri.

S-a impus astfel necesitatea elaborării unei noi metode de determinare cantitativă a dinitro-fenolilor, aplicabilă la analiza tuturor tipurilor de preparate conținînd acești compuși. După o serie de încercări experimentale, bazate pe diferite reacții ale fenolilor, autorii au găsit că se poate stabili o astfel de metodă pe baza reacției Mayer-Willstätter [11], utilizată pentru identificarea dinitro-fenolilor în preparatele insecticide sau herbicide [1] precum și în organismul uman, în cazurile de intoxicații [12].

PRINCIPIUL METODEI

Dinitro-fenolii, prin reducere cu zinc și acid sulfuric, pot fi transformați cantitativ în diamino-fenoli, iar aceștia prin oxidare cu bicromat de potasiu trec în săruri de amino-chinonimine, conform următoarei scheme:



4,6-Dinitro-2-alchil-fenolii dau astfel bicromați de 6-amino-2-alchil-chinonimine-1,4 [13]. Soluțiile apoase ale acestor săruri de chinonimine substituite prezintă o colorație roșie intensă destul de stabilă pentru a putea fi supusă unor măsurători colorimetrice. După constatările autorilor, legea Lambert-Beer este aplicabilă acestor soluții colorate, în cazul concentrațiilor mici. Pentru a se obține extincții ușor de măsurat s-a fixat limita maximă a concentrației la 20 mg/100 ml, calculată în dinitro-fenol inițial.

Prin urmare există posibilitatea determinării cantitative a dinitro-fenolilor prin transformarea lor în săruri de amino-chinonimine și colorimetrarea acestora în soluție apoasă. În fiecare caz este necesar să se utilizeze ca etalon dinitro-alchil-fenolul respectiv în stare pură. Măsurătoarea se poate face și prin comparație directă cu un colorimetru simplu Dubosq, dar este preferabil să se construiască o curbă de etalonare extincție-concentrație cu ajutorul unui colorimetru fotoelectric, folosind un filtru albastru. Autorii au întrebuințat pentru determi-

narea extincțiilor atît fotometru Pulfrich cît și colorimetrele fotoelectrice Lange și FEK-M.

PREPARAREA ETALOANELOR

Cea mai bună metodă de purificare a dinitro-alchil-fenolilor este recristalizarea din apă, eventual în prezența cărbunelui animal; ea permite să se elimine complet toate rezinele, care în dinitro-sec-butil-fenolul tehnic se găsesc în mare proporție. În acest mod autorii au obținut dinitro-*o*-crezol pur cu punctul de topire 86°C și dinitro-sec-butil-fenol pur, compus din cristale galbene cu punctul de topire 95—100°C (cu descompunere) *).

Pentru prepararea soluției etalon, exact 100 mg dinitro-fenol pur se dizolvă în 20 ml alcool etilic 95% pur. Soluția este trecută cantitativ, cu puțin alcool, într-un balon cotat de 100 ml, și apoi diluată cu apă distilată pînă la semn; această soluție nu trebuie să conțină mai mult de 30% alcool.

Din soluția etalon se iau 10—15 probe, începînd de la 1 ml pînă la 20 ml, măsurate foarte exact cu biureta, conținînd respectiv 1—20 mg dinitro-fenol. La fiecare probă se adaugă cîte 0,5 g pulbere de zinc și 10 ml acid sulfuric 10 N (circa 38%), se agită și se lasă pe o baie de nisip încălzită moderat (puțin peste 100°C) timp de 30 minute; în acest interval probele sînt agitate intermitent. După aceea se filtrează prin filtru rapid în balon cotat de 100 ml; se adaugă în balon 2 ml bicromat de potasiu 1%, se agită bine și se completează imediat la semn.

În intervalul de 1—2 ore de la obținerea acestor soluții de chinonimine, se măsoară extincția lor la colorimetru.

Valorile extincțiilor citite se raportează pe o diagramă la concentrațiile corespunzătoare în dinitro-fenol, exprimate în mg la 100 ml soluție colorimetrată.

ANALIZA PRODUSELOR INSECTICIDE ȘI HERBICIDE

În aceste produse, determinarea dinitro-fenolilor poate fi efectuată direct fără a fi necesară o separare prealabilă a lor. Procedeul de lucru descris mai jos este cel mai convenabil.

Cantitatea de substanță care se va lua pentru analiză depinde de conținutul în dinitro-fenol, și aceasta variază în limite foarte largi, între 2 și 50% (uneori chiar 80%). În funcție de conținutul presupus, sau pe baza unei analize aproximative prealabile, se cîntăresc 1—5 g produs, care se dizolvă în 20 ml alcool, iar soluția se diluează cu apă distilată la 250 ml, într-un balon cotat. Produsele care conțin dinitro-fenolii sub formă de săruri, complet solubile în apă, pot fi dizolvate direct în apă distilată. Adaosul de alcool, în proporția indicată mai sus, este însă totdeauna favorabil pentru accelerarea reducerii. Din această soluție de bază se pipetează 5,00 ml, asupra cărora se efectuează reducerea cu zinc și acid sulfuric și apoi oxidarea cu bicromat, exact în modul descris la prepararea etaloanelor. La analiza unor produse care conțin ulei mineral, se poate întîmpla ca soluția colorată finală să nu fie perfect limpede cum este necesar pentru determinarea colorimetrică. În acest caz soluția se agită cu bucăți de hîrtie de filtru pînă la limpezire și se filtrează din nou.

Din valoarea extincției, măsurată la colorimetru în aceleași condiții ca și extincțiile etaloanelor, se calculează grafic cu ajutorul curbei de etalonare

*) Printr-o purificare mai avansată s-a găsit p. t. menționat mai sus, diferit de cel indicat de noi în articolul *Eine kolorimetrische. Methode für die bestimmung der Dinitrodhenol*, apărut în Revue de biologie, I, 1956, 1, 265.

concentrația soluției colorate, și din aceasta concentrația dinitro-fenolului respectiv în produsul analizat.

Pentru verificarea metodei, autorii au analizat o serie de produse insecticide și herbicide, dintre care 38 cu DNOC și 8 cu DNBF. Unele rezultate caracteristice ale acestor analize și erorile relative respective sînt date în tabloul alăturat.

Tablou

Analize de preparate cu DNOC și DNBF

Dinitro-fenol	Tipuri de preparate	Preparat nr.	Determinări						Eroare relativă %
			1	2	3	4	5	media	
DNOC	Pulberi	I	85,1	85,9	83,3	85,0	84,4	84,7	0,51
		II	54,0	51,2	51,2	48,6	49,9	51,0	1,75
		III	12,2	10,2	9,1	10,0	9,1	10,1	5,64
DNOC	Paste	IV	56,1	57,4	46,5	—	—	53,3	6,45
		V	41,7	42,2	41,2	42,7	—	42,0	0,76
		VI	43,9	41,0	40,7	41,4	—	41,8	1,74
DNOC	Emulsii	VII	33,0	33,7	34,3	—	—	33,7	1,13
		VIII	9,5	10,3	10,0	—	—	9,9	2,33
		IX	2,1	1,8	1,7	—	—	1,9	6,37
DNOC	Uleiuri emulsionabile	X	4,8	4,5	4,6	—	—	4,6	1,95
		XI	4,4	4,4	4,5	—	—	4,4	0,91
		XII	3,5	3,9	3,9	3,5	3,5	3,7	2,73
DNBF	Uleiuri emulsionabile	XIII	18,6	18,2	15,9	19,0	—	17,9	3,90
		XIV	15,5	13,9	15,0	16,9	—	15,3	4,12
		XV	9,7	9,6	10,0	9,5	—	9,7	1,14
DNBF	Soluții	XVI	14,5	13,0	13,4	—	—	13,7	3,29
		XVII	22,2	24,4	24,4	24,6	—	23,9	2,34
		XVIII	24,9	25,6	24,0	24,4	—	24,7	1,42
DNBF	Produs tehnic	—	63,2	65,5	66,7	—	—	65,1	1,58

CONCLUZII

În lucrarea de față autorii dau o metodă colorimetrică pentru determinarea dinitro-fenolilor în produsele insecticide și herbicide. Metoda se bazează pe reducerea dinitro-fenolilor în diamino-fenoli, oxidarea acestora în amino-chinonimine și determinarea extincțiilor soluțiilor apoase ale sărurilor de chinonimine în lumină albastră.

Metoda descrisă a fost verificată prin analiza unor produse cu dinitro-*o*-crezol și a unora cu dinitro-sec-butil-fenol. Ea poate fi utilizată desigur și la determinarea altor dinitro-alchil-fenoli.

Metoda este aplicabilă la toate tipurile de produse insecticide și herbicide, atît la cele solubile în apă, cît și la cele emulsionabile.

Eroarea medie a metodei este de 3%, de același ordin de mărime ca a metodei colorimetrice Fischer.

Institutul de cercetări agronomice,
Laboratorul de fungicide-insecticide,
București

Prezentată la redacție la 14 iulie 1955.

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИНИТРОФЕНОЛОВ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В настоящей работе авторы дают новый колориметрический метод для количественного определения динитрофенолов в инсектицидных и гербицидных препаратах. Метод основывается на реакции Мейера - Вильштетера и состоит в восстановлении динитрофенолов в диаминофенолы при помощи цинка и серной кислоты, в превращении диаминофенолов в аминохинонимины путем окисления хромпиком (двухромовокислым калием) и затем в определении погасаний в синем свете красных водных растворов бихроматов хинониминов.

Метод применим ко всем видам препаратов на основе динитрофенолов как к препаратам, растворимым в воде, так и к эмульгируемым. Он представляет некоторые выгоды по сравнению с использовавшимися до настоящего времени методами Кнехта-Гибберта и Фишера.

Описанный метод был проверен посредством анализа некоторых препаратов, содержащих динитроортокрезол, а также некоторых препаратов, содержащих динитро-втор-бутилфенол, причем были получены воспроизводимые результаты со средней погрешностью 3%.

UNE MÉTHODE COLORIMÉTRIQUE POUR LA DÉTERMINATION DES DINITROPHÉNOLS

(RÉSUMÉ)

Dans ce travail, les Auteurs exposent une nouvelle méthode colorimétrique de détermination quantitative des dinitrophénols dans les produits insecticides et herbicides. La méthode est basée sur la réaction de Mayer-Willstätter et consiste en: réduction des dinitrophénols en diaminophénols par le zinc et l'acide sulfurique, transformation des diaminophénols en amino-quinonimines, par oxydation au bichromate de potassium et, enfin, détermination des extinctions, en lumière bleue, des solutions aqueuses rouges des bichromates de quinonimines.

La méthode est applicable à tous les types de produits à base de dinitrophénols, aux produits solubles dans l'eau, aussi bien qu'aux produits émulsionnables; cette méthode offre plusieurs avantages sur celles de Knecht-Hibbert et de Fischer, utilisées jusqu'à présent.

La méthode décrite a été vérifiée par l'analyse de certains produits au dinitro-orthocrésol, ainsi que de quelques produits contenant du dinitro-sec. butyl-phénol. Par cette voie, on a réussi à obtenir des valeurs reproductibles, avec une erreur moyenne de 3 %.

BIBLIOGRAFIE

1. R. Fabre, Y. Raoul, *Manuel de Phytopharmacie.* Paris, **III**, 1949, 236.
2. * * * *Journées de la lutte chimique contre les ennemis des cultures.* Paris, 1937, Chimie & Industrie, nr. spec., 1937.
3. H. Martin, *The Scientific Principles of Plant Protection.* Londra, ed. 3, 1940, 172, 223.

4. P. Sorauer, O. Appel, *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. Berlin, **6**, 1939, 471.
5. C. J. Barker, D. W. Pound, Chem. Abstr., **45**, 9561 (1951).
6. N. N. Melinkov, I. A. Baskakov, Uspehi himii, **XXIII**, 142—198 (1954).
7. W. Fischer, *Die Untersuchung von Pflanzenschutzmitteln* (Verb. Dtsch. Landw. Untersuchungsanstalten) 35—36, 1941, (Neudamm und Berlin).
8. H. Meyer, *Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen*. Viena, ed. 6, 1938, 754.
9. W. Fischer, Z. Anal. Chem, **112**, 91, (1937).
10. W. Borsche, Ber. Dtsch. Chem. Ges., **37**, 1850 (1904).
11. V. Grignard, Gr. Dupont, R. Locquin, *Traité de Chimie organique*. Paris, **VIII**, 1947, 23—24; **XII**, 1941, 672.
12. N. V. Lazarev, *Substanțe chimice nocive în industrie*. Ed. tehnică, București, **I**, 1954, 496.
13. F. Kehrmann, H. Prager, Ber. Dtsch. Chem. Ges., **39**, 3437 (1906).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

O NOUĂ METODĂ DE DOZARE FOTOMETRICĂ A FLAVONOLILOR ŞI 3-GLICOZIZILOR LOR *)

DE

D. GR. CONSTANTINESCU şi V. EM. CALCANDI

O dată cu importanţa terapeutică pe care au luat-o în ultimii ani flovonosizii şi agliconii lor, proprietăţile fizico-chimice şi în special dozarea acestor principii active au început să preocupe pe fitochimişti, pe o scară tot mai largă.

În centrul acestor preocupări se găseşte rutozidul şi agliconul său quercetolul, deoarece aceştia sînt uşor de extras din anumite specii de plante şi au cele mai multiple şi bine determinate proprietăţi farmacodinamice [1] şi [2].

Dintre proprietăţile fizice şi chimice, mai mult sau mai puţin specifice flavonolilor, amintim: combinaţia pe care o dau în mediul acetonic, cu acidul boric, în prezenţa acidului citric sau oxalic, combinaţie însoţită de apariţia unei colorаţii de la galben intens pînă la roşu; dacă se îndepărtează acetona, iar produsul este dizolvat în eter, acesta se colorează în galben şi prezintă o fluorescenţă verde. Intensitatea culorii cît şi a fluorescenţei este direct proporţională cu cantitatea de flavonol luată în lucru [3] şi [4].

De asemenea flavonolii dau cu unii ioni metalici, complecşi interni divers coloraţi (de la galben pal, pînă la roşu intens), solubili fie în apă, fie în diverşi solvenţi organici, de preferinţă în metanol, etanol, acid acetic diluat etc., comunicîndu-le culoarea respectivă.

Aceşti complecşi au fost foarte mult studiaţi şi folosiţi pentru dozarea flavonolilor. Formarea lor este condiţionată de un anumit aranjament atomic caracteristic, adică de prezenţa unui oxidril în poziţia *orto* faţă de carbonilul nucleului γ-pironic [5].

În afară de reacţiile de culoare amintite mai sus, flavonolii mai prezintă o serie de alte reacţii de culoare, specifică fie nucleului fenil-2-cromonic, fie oxidrililor grefaţi pe acest nucleu [6] şi [7].

Importanţa pe care a luat-o flavonolii atît ca principii elaboraţi de celula vegetală, cît şi ca substanţe medicamentoase a condus la precizarea unei serii de metode calitative şi cantitative pentru cercetarea lor, fie în plante, fie în diversele forme farmaceutice, metode bazate în special atît pe formarea complexului flavonol-acid boric — acid citric sau oxalic, cît şi pe formarea combinaţiei

*) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R., din 30 iunie 1955.

complexe interne flavonol-metal. Aceste reacţii au fost aplicate în special la studiul rutozidului, quercetolului şi quercitrozidului, de altfel principiile flavonice cel mai mult întrebuinţate în terapeutică.

Dintre reacţiile de culoare produse de flavonolii cu ionii metalici sînt folosite, din cunoştinţele ce le avem, în special următoarele:

— culoarea galbenă dată de ionul Al^{3+} în prezenţa acetatului de potasiu [8];

— culoarea galbenă dată de ionul Zr^{4+};

— culoarea roşie dată de ionul Ti^{4+} în mediu de acid acetic [9];

— de asemenea, în ultimul timp au mai fost studiate şi reacţiile de culoare dintre rutozid şi ionii Cu^{2+} şi Cd^{2+} [10].

Dintre acestea s-au putut folosi în scopuri cantitative următoarele:

— reacţia cu Al^{3+}, cea mai întrebuinţată, dar care prezintă dezavantajul că culoarea atinge maximul de intensitate după un timp anumit (30 de minute) şi apoi scade, mai puţin în cazul rutozidului, mai puternic în cazul quercetolului [10].

— reacţia cu Zr^{4+}, culoare ce devine stabilă în cazul rutinei după o oră de păstrare la 20°, iar în cazul quercetolului după 2 ore la 60° [10];

— reacţia cu Ti^{4+} este o reacţie foarte sensibilă, însă greu de executat din cauza dificultăţii procurării şi conservării reactivului [8].

În cadrul cercetărilor întreprinse de noi asupra extragerii şi dozării rutozidului din *Fagopyrum* sp. am observat că *ionul uranil* O_2U^{2+}, *în anumite condiţii, dă complecşi galben-portocalii atît cu rutozidul cît şi cu quercetolul, solubili în metanol, etanol şi apă.*

Din cunoştinţele ce le avem şi din posibilităţile ce ne-au stat la dispoziţie să consultăm literatura recentă de specialitate, am constatat că această reacţie n-a fost descrisă în literatură, fapt care ne-a determinat să încercăm a stabili mecanismul formării ei şi să-i studiem eventualele avantaje sau dezavantaje faţă de celelalte metode în vederea microdozării flavonolilor.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Studiile noastre experimentale au fost făcute asupra rutozidului şi quercetolului pure, preparate şi analizate în secţia de chimie vegetală a Centrului de cercetări ştiinţifice pentru plante medicinale, folosind ca reactiv ionul uranil O_2U^{2+}.

Deoarece în cursul cercetărilor noastre am observat că reacţiile de culoare care iau naştere nu sînt funcţie numai de cationul complex uranil, ci şi de anionul combinat cu acesta, vom prezenta separat sărurile colorate formate de rutozid şi quercetol cu nitratul de uranil şi cu acetatul de uranil.

1. Studiul reacţiilor de culoare cu nitratul de uranil

a) Reacţia rutozid-nitrat de uranil

Pentru determinările noastre am folosit o soluţie de rutozid anhidru în alcool metilic, în concentraţie de 0,05 %, iar reactivul a fost format dintr-o soluţie metanolică 0,4 % de nitrat de uranil.

Modul de lucru a fost următorul: într-un balon cotat de 25 cm^3 capacitate, se pipetează 0,25—5 ml de soluţie alcoolică de rutozid, peste care se adaugă 5 ml soluţie de reactiv şi se completează cu metanol la 25 ml. La adăugarea reactivului se produce imediat o coloraţie galben-portocalie, a cărei intensitate variază proporţional cu cantitatea de rutozid luată în lucru. Se face o probă

în alb din 5 ml reactiv şi 20 ml metanol. Ambele soluţii se pun în cuvele de 1 cm ale fotometrului Pulfrich şi se citeşte extincţia coloraţiei rezultate.

În primul rînd am stabilit curba tipică de culoare a complexului colorat, determinînd extincţiile respective la cele 10 filtre ale fotometrului. Rezultatele obţinute cu o concentraţie de 0,0056% rutozid ne-au permis să stabilim curba tipică de culoare (fig. 1).

Se observă că extincţiile mari sînt date de lungimile mici de undă şi ele ajung la 0 către lungimile mari de undă.

Alegînd filtrul S. 42, unde se obţine extincţia maximă a complexului colorat, am stabilit curba-etalon lucrînd cu concentraţii crescînde de rutozid şi în condiţiile arătate mai sus (fig. 2).

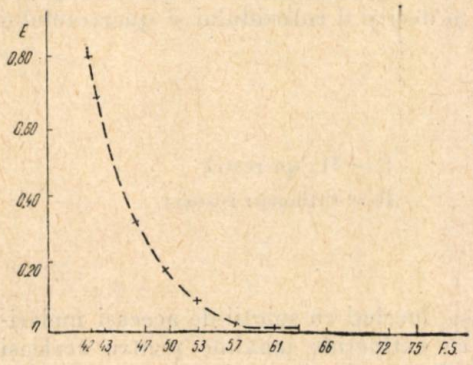


Fig. 1. — Curba tipică de culoare a complexului rutozid-nitrat de uranil.

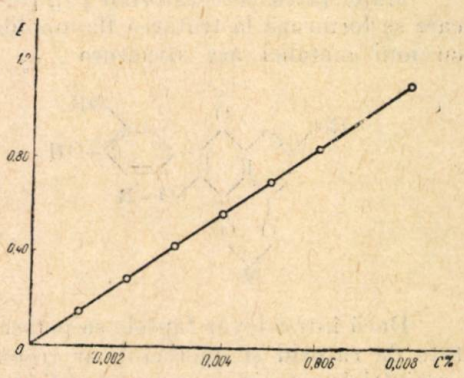


Fig. 2. — Curba-etalon a complexului rutozid-nitrat de uranil la F.S. 42.

După cum se observă legea lui Lambert-Beer este satisfăcută.

b) Reacţia quercetol-nitrat de uranil

Cercetări asemănătoare am făcut şi cu quercetolul, servindu-ne în acest scop de o soluţie metanolică de quercetol 0,025 %. Determinările fotometrice în vederea stabilirii curbei tipice de culoare şi a curbei etalon (F.S. 42) ne-au dus la construirea graficului din figura 3 pentru curba tipică de culoare şi la cel din figura 4 pentru curba-etalon.

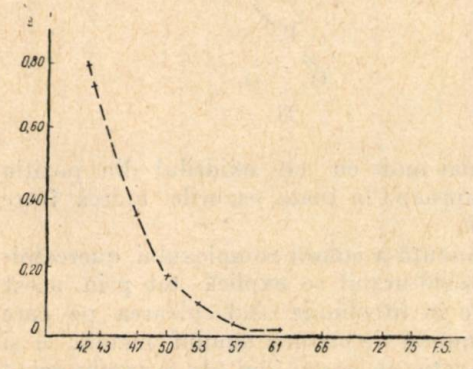


Fig. 3. — Curba tipică de culoare a complexului quercetol-nitrat de uranil.

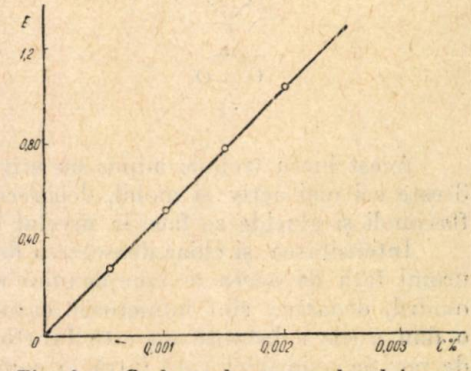


Fig. 4. — Curba-etalon a complexului quercetol-nitrat de uranil la F.S. 42.

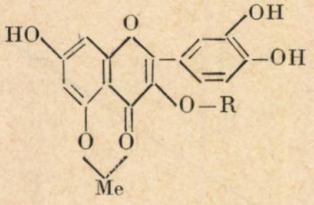
Rezultatele obţinute ne arată că, curba tipică de culoare a quercetolului este foarte asemănătoare cu aceea a rutozidului, culoarea complexului fiind tot galben-portocalie, de o nuanţă puţin mai roşcată ca în cazul rutozidului.

De asemenea, se mai observă că şi în cazul complexului quercetol-nitrat de uranil, curba-etalon de extincţie satisface legea lui Lambert-Beer.

2. Studiul mecanismului formării complexului flavonol-uranil

a) Structura probabilă a complexului

Majoritatea cercetătorilor [5], [9] susţin că, combinaţia complexă colorată care se formează la tratarea flavonolilor şi deci şi a rutozidului şi quercetolului cu ioni metalici are structura

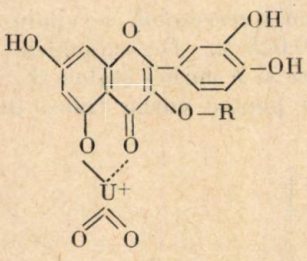


R = H: quercetol

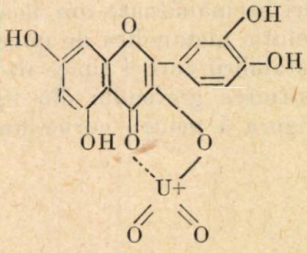
R = rutinoză: rutozid

Dacă într-adevăr faptele se petrec aşa, lucrînd cu soluţii de aceeaşi molaritate de rutozid şi quercetol, ar trebui ca extincţiile maxime pentru aceleaşi cantităţi de rutozid şi quercetol să fie egale, însă extincţia maximă a quercetolului este de aproape două ori mai mare decît aceea dată de rutozid.

Noi înclinăm să admitem că această diferenţă de extincţie se datoreşte structurii diferite a celor doi complecşi: rutozid-uranil şi quercetol-uranil. Complexul rutozid-uranil ar avea structura I, iar complexului quercetol-uranil îi atribuim structura II:



I



II

Acest lucru trebuie admis cu atît mai mult cu cît oxidrilul din poziţia 3 este cel mai activ şi mobil, deoarece aproape în toate cazurile unirea între flavonoli şi glucide se face la nivelul lui.

Intensitatea şi chiar deosebirea de nuanţă a culorii complexului quercetol-uranil faţă de aceea a complexului rutozid-uranil se explică tot prin acest oxidril, deoarece sînt numeroase cazurile în fitochimie cînd culoarea pe care o dau unele substanţe nu este funcţie numai de natura ionului metalic ci şi de poziţia oxidrililor care intră în combinaţie cu aceşti ioni (de exemplu cazul oxiantrachinonelor).

S-ar putea obiecta că intensitatea culorii ar putea fi dată şi de alte funcţiuni oxidrilice existente în molecula rutozidului şi quercetolului, însă lucrînd în condiţii similare şi în cantităţi corespunzătoare cu soluţii metanolice de pirocatehină şi rezorcină, cu glucoză şi ramnoză, fie ca atare fie în amestec, am constatat că extincţiile au fost zero pentru concentraţii similare soluţiilor de rutozid şi quercetol experimentate de noi.

b) Natura şi dinamica reacţiei

Plecînd de la faptul că unii cercetători [9] susţin că complecşii coloraţi rezultaţi de la tratarea flavonelor fie cu Zr^{4+}, fie cu Al^{3+} sînt combinaţii stoechiometrice, în primul caz de tipul 1:1, iar în al doilea caz de tipul 1:2, am căutat, servindu-ne de metoda lui Y o e şi J o n e s [11], să studiem natura şi dinamica reacţiei rutozid-nitrat de uranil, în mediu de metanol.

Pentru aceasta am preparat separat soluţii metanolice de rutozid şi de nitrat de uranil de aceeaşi molaritate (M : 1 000). Cu ajutorul acestor soluţii am pregătit amestecuri, variind proporţia dintre ele, însă în fiecare serie de experienţe una din soluţii rămînînd în cantitate constantă şi am fotometrat de fiecare dată, pînă cînd crescînd şi mai mult proporţia uneia dintre componente, extincţia nu a mai variat.

În tabloul nr. 1 redăm extincţiile obţinute cu soluţiile rutozid-nitrat de uranil M/1 000, păstrînd constantă cantitatea de rutozid.

Tabloul nr. 1

Soluţie de rutozid M/1 000 ml	Soluţie de nitrat de uranil M/1 000 ml	Alcool metilic ml	Nitrat de uranil / rutozid	S 42 E_1 cm
2	1	22	1/2	0,40
2	2	21	1/1	0,45
2	4	19	2/1	0,56
2	6	17	3/1	0,585
2	8	15	4/1	0,60
2	10	13	5/1	0,615
2	12	11	6/1	0,625
2	14	9	7/1	0,64
2	16	7	8/1	0,64
2	18	5	9/1	0,64

Din tabloul nr. 1 se constată că cel puţin în condiţiile noastre de lucru culoarea complexului rutozid-uranil atinge maximum de extincţie cînd raportul de molaritate rutozid-nitrat de uranil este 1 : 7, deosebindu-se de acela observat de cercetători în cazul zirconiului şi aluminiului. Extincţia amestecului în proporţii de 1 : 1 reprezintă circa 2/3 din extincţia maximă, totuşi acesta nu se obţine decît cînd raportul între rutozid şi uranil este 1 : 7. La fel se petrec lucrurile şi în cazul quercetolului; acest fapt ne determină să admitem că reacţia de formare a complexului este reversibilă.

Dacă pentru moment noi nu am reuşit,să adîncim total mecanismul reacţiei de culoare rutozid-uranil, totuşi rezultatele obţinute ne arată că pentru dozarea flavonolilor reactivul trebuie să conţină o cantitate de uranil de cel puţin 7—8 ori mai mare decît cantitatea de flavonol ce urmează a fi determinată.

c) Dezvoltarea şi stabilitatea coloraţiei

Am amintit că la unele metode fotometrice propuse pentru dozarea flavonolilor culoarea se dezvoltă într-un timp mai mult sau mai puţin îndelungat, uneori necesitînd o ridicare de temperatură, iar la altele culoarea este mai puţin stabilă, ceea ce constituie un neajuns pentru aceste procedee de dozare.

În cazul nostru dezvoltarea coloraţiei dată de rutozid sau quercetol la tratare cu nitrat de uranil este practic instantanee şi verificată; timp de patru ore nu a arătat vreo diminuare a extincţiei, fiind deci foarte stabilă.

3. Studiul reacţiilor de culoare cu diverse modificări ale reactivului

Încurajaţi de rezultatele obţinute mai sus, am căutat să aducem diverse modificări reactivului, urmărind în primul rînd să mărim extincţia complexului colorat. În acest scop am studiat:

a) Influenţa acetatului de sodiu şi de potasiu

Peste soluţia de rutozid sau quercetol am adăugat nitrat de uranil şi acetat de sodiu sau potasiu, ambele în soluţii metanolice. S-a dezvoltat o coloraţie portocaliu-roşcată, dar complexul colorat a precipitat, mai puternic în cazul rutozidului, mai slab în cazul quercetolului.

b) Influenţa acetatului de amoniu

Peste soluţia de rutozid sau quercetol am adăugat nitrat de uranil şi acetat de amoniu tot în soluţii metanolice. Soluţia s-a decolorat puternic după adăugarea acestuia din urmă, din cauza reacţiei slab acide a acetatului de amoniu, complexul colorat rutozid sau quercetol-uranil fiind distrus în mediu acid.

c) Influenţa acetatului de uranil

Am încercat influenţa acetatului de uranil asupra rutozidului şi quercetolului. În ambele cazuri se dezvoltă o coloraţie portocaliu-roşcată, mai închisă în cazul quercetolului, dar complexul colorat precipită în ambele cazuri. Dacă însă peste soluţia cu precipitat se toarnă un volum egal de soluţie metanolică de nitrat de uranil, precipitatul se dizolvă la uşoară agitare.

La rezultate interesante am ajuns folosind un reactiv format din părţi egale de nitrat de uranil 0,4 % şi acetat de uranil 0,4 %, în metanol. Modul de lucru a fost identic cu cel descris mai înainte, proba în alb fiind făcută din 5 ml din acest amestec şi 20 ml metanol.

La adăugarea reactivului peste soluţia de rutozid se obţine o coloraţie galben-portocalie puţin mai roşcată şi mai intensă decît aceea produsă numai de soluţia metanolică de nitrat de uranil. Determinîndu-se curba tipică de culoare a acestei coloraţii, am observat că ea nu diferă esenţial de curba de culoare pe care o dă rutozidul cu nitrat de uranil simplu, absorbţia cea mai mare fiind dată şi aici de lungimile mici de undă. Rezultatele sînt reproduse în graficul din figura 5.

În schimb se constată că extincţiile citite la F.S. 42 sînt ceva mai mari decît acelea obţinute pentru concentraţii corespunzătoare de rutozid dozate numai cu soluţie de nitrat de uranil. Rezultatele sînt redate în graficul din figura 6.

Cercetări asemănătoare am făcut şi cu quercetol şi am constatat că prin tratarea acestuia cu amestec de nitrat şi acetat de uranil se obţine o coloraţie roşie sanguină, bine diferenţiată de culoarea produsă numai de nitratul de uranil.

De asemenea este caracteristic şi important faptul că această coloraţie dă o curbă tipică de alt aspect, cu maximum de absorbţie nu la S. 42, ci la S. 47, bine diferenţiată de curbele obţinute în celelalte cazuri. Rezultatele sînt redate în graficul din figura 7 pentru curba tipică de culoare şi în graficul din figura 8 pentru curba-etalon făcută la S. 47.

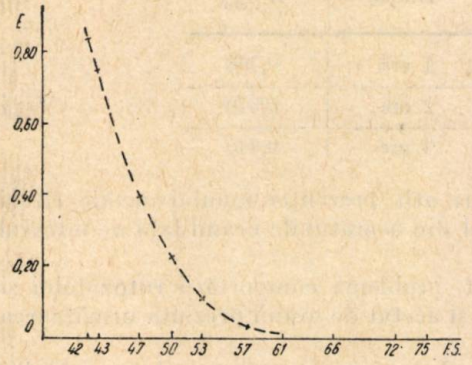


Fig. 5. — Curba tipică de culoare a complexului rutozid-nitrat + acetat de uranil.

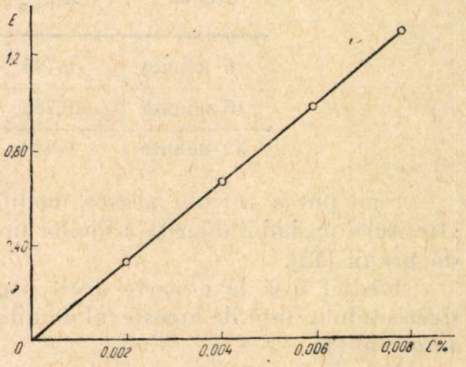


Fig. 6. — Curba-etalon de extincţie a rutozidului cu nitrat + acetat de uranil.

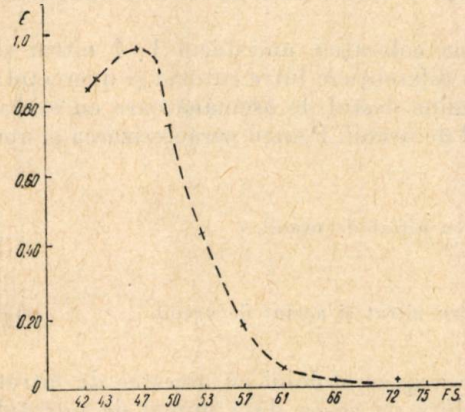


Fig. 7. — Curba tipică de culoare a quercetolului cu amestec de nitrat + acetat de uranil.

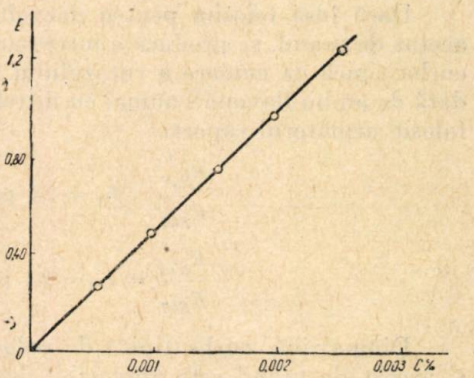


Fig. 8. — Curba-etalon a quercetolului la F. S. 47 cu amestec nitrat + acetat de uranil.

Din examinarea acestor rezultate se observă că valorile obţinute la quercetol cu amestecul de nitrat + acetat de urnil F.S. 47 sînt puţin mai mici decît valorile pentru concentraţiile corespunzătoare obţinute la F.S. 42 numai cu nitrat de uranil.

Studiind ca şi în cazul nitratului de uranil dezvoltarea şi stabilitatea coloraţiei obţinută cu amestecul de nitrat şi acetat de uranil, am constatat că dezvoltarea coloraţiei se face şi aici practic instantaneu, dar ea nu este stabilă şi scade în timp, începînd de la primele minute (tabloul nr. 2).

Desigur ar trebui dată o explicaţie diferenţelor structurale pe care le prezintă complexul flavonol-uranil-nitrat faţă de complexul flavonol-uranil-acetat,

diferenţe materializate printr-o schimbare a nuanţei culorii şi în special în cazul quercetolului printr-o modificare a curbei tipice de culoare.

Tabloul nr. 2

Timpul	$E^{S\,47}_{1\text{ cm}}$	Timpul	$E^{S\,47}_{1\text{ cm}}$
5 minute	0,745	1 oră	0,705
15 minute	0,735	2 ore	0,670
30 minute	0,720	4 ore	0,640

S-ar putea atribui aceste modificări atît prezenţei ionului acetic cît şi structurii probabil diferite a ionilor uranil din acetatul de uranil faţă de nitratul de uranil [12].

Lăsînd însă la o parte acest aspect, problema comportării rutozidului şi quercetolului faţă de amestecul de nitrat şi acetat de uranil prezintă următoarea importanţă:

Folosind numai nitratul de uranil curbele tipice de culoare ale rutozidului şi quercetolului sînt foarte asemănătoare ele prezentînd un maxim de extincţie la lungimile mici de undă (F. S. 42, F. S. 43) scăzînd brusc la lungimile medii (F. S. 47, F. S. 50) pentru a atinge practic extincţia zero la lungimile mari de undă.

Dacă însă folosim pentru dezvoltarea coloraţiei amestecul 1: 1 nitrat şi acetat de uranil, se produce o interesantă diferenţiere între rutozid şi quercetol: curba tipică de culoare a rutozidului rămîne destul de asemănătoare cu aceea dată de ambii flavonoli numai cu nitratul de uranil. Pentru caracterizarea ei am folosit următorul raport:

$$\frac{E_{S42}}{E_{S47}} = K_1 = 2{,}5 \text{ pentru nitrat de uranil,}$$

$$\frac{E_{S42}}{E_{S47}} = K_2 = 2{,}1 \text{ pentru nitrat şi acetat de uranil.}$$

Dimpotrivă, curba tipică de culoare a quercetolului cu amestec de nitrat şi acetat de uranil este apreciabil deosebită de aceea dată numai de nitratul simplu, ea prezentînd maximul de extincţie la F. S. 47, iar raporturile de mai sus devin:

$$\frac{E_{S42}}{E_{S47}} = K_3 = 2{,}2 \text{ pentru nitrat de uranil,}$$

$$\frac{E_{S42}}{E_{S47}} = K_4 = 0{,}87 \text{ pentru nitrat şi acetat de uranil.}$$

De asemenea se poate stabili un factor diferenţial între filtrele S. 42 şi S. 53.

Diferenţa dintre factorii K_2 şi K_4 poate folosi nu numai la stabilirea identităţii rutozidului şi quercetolului dar şi la decelarea prezenţei unuia în celălalt. Obţinerea unui factor K intermediar va arăta prezenţa unui flavonol în

celălalt. Acest procedeu este sensibil mai ales la decelarea de cantităţi mici de quercetol în rutozid, cînd factorul K_2 scade mult sub valoarea 2,1.

Desigur că valorile extincţiilor găsite de noi sînt relative, ele fiind stabilite vizual la fotometrul Pulfrich, care ne-a stat la îndemînă şi nu la un aparat de mare precizie.

4. Încercări pe hîrtie cromatografică

Am încercat să precizăm dacă rutozidul şi quercetolul pot fi identificate pe hîrtia cromatografică, cu ajutorul soluţiilor metanolice de nitrat şi acetat de uranil. Aceste cercetări ne-au arătat că:

a) Rutozidul dă cu soluţia metanolică de nitrat de uranil o coloraţie galben-portocalie, iar cu cea de acetat de uranil aceeaşi coloraţie, însă puţin mai intensă şi de o nuanţă puţin mai roşcată. În ambele cazuri o cantitate de 2 μ g de rutozid poate fi pusă în evidenţă cu ionul uranil.

b) Quercetolul cu soluţia de nitrat de uranil dă o coloraţie de o nuanţă portocaliu-roşcată, bine diferenţiată de aceea dezvoltată în cazul rutozidului, iar cu acetatul de uranil dă aceeaşi coloraţie, dar puţin mai intensă şi de o nuanţă puţin mai roşcată ca în cazul nitratului de uranil. În ambele cazuri pe această cale se pot pune în evidenţă cantităţi de sub 1 μ g de quercetol.

Coloraţia dată de rutozoid şi quercetol cu ionul uranil poate servi la dozarea lor din amestecul rutozoid-quercetol sau alţi flavonoli, după separarea lor pe hîrtia cromatografică. Date mai amănunţite în legătură cu această problemă vom prezenta într-o lucrare viitoare.

CONCLUZII

1. Am stabilit că ionul uranil în soluţie metanolică formează cu flavonolii şi 3-glicoziziilor complecşi, de culoare galben-portocaliu-roşcată, în cazul nitratului de uranil, solubili în alcool, în cazul acetatului de uranil precipitabili.

2. Am pus la punct un nou procedeu de dozare a flavonilor pe baza reacţiei de culoare a lor cu nitratul de uranil, după tehnica descrisă la pagina 4.

3. Prin întrebuinţarea unei soluţii metanolice ce conţine 0,2 % nitrat şi 0,2 % acetat de uranil, se poate pune în evidenţă prezenţa quercetolului în rutozid şi invers, după valoarea raportului: $\frac{E_{S\,42}}{E_{S\,47}} = K$.

4. Am pus la punct un procedeu pentru identificarea rutozidului şi quercetolului pe hîrtia cromatografică, în cantităţi începînd de la 1—2 μ g.

Centrul de cercetări ştiinţifice pentru plante medicinale, Secţia chimie vegetală, Bucureşti

Lucrare prezentată la redacţie la 14 iulie 1955

НОВЫЙ МЕТОД ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОЛОВ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторы описывают новую цветную реакцию, которую дают флавонолы и 3-гликозиды их с ионом уранилом. Исследования были проведены над рутозидом и агликоном или кверцетолом, причем был уста-

новлен метод определения этих последних при помощи метанолового раствора азотнокислого уранила 0,4%.

Был установлен также метод распознавания присутствия кверцетола в рутозиде и обратно, с использованием в качестве реагента смеси 1:1 азотнокислого и уксуснокислого уранилов в метаноловом растворе.

Наконец, был установлен метод идентификации рутозида и кверцетола на хроматографической бумаге, при помощи вышеназванных реактивов.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Типичная кривая цвета комплекса рутозид-азотнокислый уранил.
Рис. 2. — Кривая-эталон комплекса рутозид-азотнокислый уранил при F.S. 42.
Рис. 3. — Типичная кривая цвета комплекса кверцетол-азотнокислый уранил.
Рис. 4. — Кривая-эталон комплекса кверцетол-азотнокислый уранил.
Рис. 5. — Типичная кривая цвета комплекса рутозид-азотнокислый и уксуснокислый уранил.
Рис. 6. — Кривая-эталон затухания рутозида с азотнокислым и уксуснокислым уранилом.
Рис. 7. — Типичная кривая цвета кверцетола в смеси с азотнокислым и уксуснокислым уранилом.
Рис. 8. — Кривая-эталон кверцетола при FS 47 в смеси с азотнокислым и уксуснокислым уранилом.

UNE NOUVELLE MÉTHODE DE DOSAGE PHOTOMÉTRIQUE DES FLAVONOLS ET DE LEURS 3-GLYCOSIDES

(RÉSUMÉ)

Les Auteurs ont décrit une nouvelle réaction colorée que donnent les flavonols avec l'ion uranyle. En faisant des recherches sur le rutoside et son aglycone, le quercétol, ils ont mis au point un procédé de dosage de ceux-ci avec une solution méthanolique de nitrate d'uranyle à 0,4 %.

Ils ont établi un procédé d'indentification de la présence du quercétol dans le rutoside ou inversement, en utilisant comme réactif un mélange de 1: 1 de nitrate et d'acétate d'uranyle en solution méthanolique.

Ils ont mis au point l'identification du rutoside et du quercétol sur papier chromatographique, à l'aide des réactifs mentionnés ci-dessus.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Courbe d'absorption du complexe rutoside-nitrate d'uranyle.
Fig. 2. — Courbe-étalon du complexe rutoside-nitrate d'uranyle (Filtre spectral 42).
Fig. 3. — Courbe d'absorption du complexe quercétol-nitrate d'uranyle.
Fig. 4. — Courbe-étalon du complexe quercétol-nitrate d'uranyle (F.S. 42).
Fig. 5. — Courbe d'absorption du complexe rutoside-nitrate + acétate d'uranyle.
Fig. 6. — Courbe-étalon de l'extinction du rutoside avec le nitrate +acétate d'uranyle.
Fig. 7. — Courbe d'absorption du quercétol avec un mélange de nitrate + acétate d'uranyle.
Fig. 8. — Courbe-étalon du quercétol avec un mélange de nitrate + acétate d'uranyle (F.S. 47).

BIBLIOGRAFIE

1. E. Jeney, J. Uri, Die Pharmazie, **IX**, 533 (1954).
2. J. Lavollay, J. Neuman, Exp. ann. Bioch. med., **X**, 59 (1949).
3. A. R. Guseva, M. N. Nestiuc, Biochimia, 169 (1953).
4. L. Hörhammer, R. Hänsel, S. Strasser, Arch. d. Pharm., **285**, 286 (1952).
5. P. Pfeiffer, Liebigs Ann. chem., **398**, 137 (1913).
6. Glazko, Adair, Papageorge, Lewis, Chem. Abstr., 1954 (1947).
7. J. Rae, Pharm. J., **163**, 111 (1949).
8. Turner, Anal. Chem., **24**, 1444 (1952).
9. L. Hörhammer, R. Hansel, Arch. Pharm., **285**, 438 (1952).
10. P. Hagedorn, R. Neu, Arch. Pharm., **286**, 486, (1953).
11. J. H. Yoe, Al. Jones, Ind. Eng. Chem. analist, **16**, 112 (1940).
12. I. I. Lilipina, O. I. Samoilov, DAN SSSR, **XCVIII**, 99 (1954).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 1—2, 1956

PREPARAREA UNOR ω-HIDROXI-ACETOFENONE PRINTR-O REACŢIE DE HIDROXI-ACETILARE A FENOLILOR CU GLICOLO-NITRIL*)

DE

I. MINŢER şi F. GHERGHEL

Obiectul lucrării de faţă îl formează prepararea unor hidroxi-acetofenone fenolice prin reacţia de condensare între fenoli şi cel mai simplu α-hidroxi-nitril, hirdroxi-acetonitrilul (formaldehid-cianhidrina sau glicolo-nitrilul).

Din reacţia menţionată, executată în mediu de acid clorhidric gazos, rezultă clorhidratul unei imine corespunzătoare cetonei respective, a cărei formare se urmăreşte; aceasta se obţine final printr-o hidroliză în soluţie apoasă acidă a clorhidratului de imină intermediar. Sinteza comportă deci două stadii:

I. Condensarea:

$$(HO)_n\,Ar-H + \left[\begin{matrix} C-CH_2OH \\ \| \\ N \end{matrix}\right. + 2HCl \rightarrow \left.\begin{matrix} Cl-C-CH_2OH \\ \| \\ NH\cdot HCl \end{matrix}\right] \xrightarrow{-HCl} (HO)_n\,Ar-\underset{\underset{NH\cdot HCl}{\|}}{C}-CH_2OH$$

II. Hidroliza:

$$(HO)_n\,Ar-\underset{\underset{NH\cdot HCl}{\|}}{C}-CH_2OH + H_2O \rightarrow (HO)_n\,Ar-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2OH + NH_4Cl$$

Rezultatul sintezei urmărite constă aşadar în introducerea unei grupări $-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_2OH$ — hidroxi-acetil — într-un nucleu polifenolic sau naftolic (sinteza nu este posibilă pe această cale pentru monofenoli).

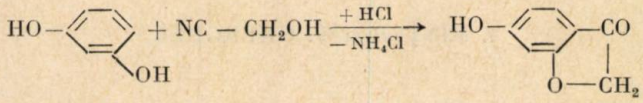
O reacţie de condensare între polifenoli şi nitrili este cunoscută în literatură din 1915, cînd Hoesch şi colaboratorii săi, încercînd o extindere a sintezei

---

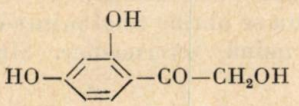
*) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R., din 30 iunie 1955. Lucrările de analiză elementară au fost efectuate prin bunăvoinţa prof. C. D. Nenițescu, de către E. Şliam, în laboratorul de chimie organică al Institutului politehnic, Bucureşti.

Gattermann pentru obținerea aldehidelor fenolice prin reacția dintre fenoli și acid cianhidric, prepară o serie de cetone polifenolice prin condensarea rezorcinei, orcinei și floroglucinei cu acetonitril și benzonitril [1] și apoi și cu nitrili superiori ca vanilino-nitrilul și nitrilul acidului protocatechic [2]. Procedeul constă în trecerea unui curent de acid clorhidric uscat prin amestecul echimolecular de fenol și nitril, în soluție eterică și în prezența catalitică a clorurii de zinc; produsul de reacție, descompus cu o soluție diluată de acid clorhidric sau sulfuric și spălat cu eter, se hidrolizează prin fierbere în soluție apoasă la cetona respectivă, fie direct, fie după trecere în imina liberă prin tratare cu o soluție de amoniac sau hidroxid de sodiu.

După metoda elaborată de H o e s c h pentru acest tip de reacții, W. K. S l a t e r și H. S t e p h e n [3] încearcă o extindere, aceea de a obține pentru prima oară oxi- și metoxi-cetone fenolice, prin utilizarea drept componente nitrilice a oxi- și metoxi-acetonitrililor și, drept componente fenolice a rezorcinei, floroglucinei și eterilor lor. Autorii citați au obținut, în cazul condensării glicolo-nitrilului cu rezorcina și floroglucina, nu oxi-cetonele așteptate ci produșii lor de eterificare intramoleculară, cu structură cumaranonică, conform reacției:



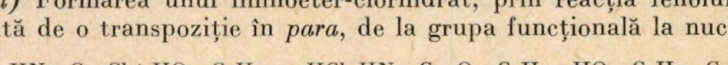
Lucrarea ulterioară, publicată de P. K a r r e r și H. B i e d e r m a n n în 1927 [4], contrazice însă rezultatele citate [3], autorii constatînd că, în condițiile indicate de S l a t e r [3], nu are loc formarea oxi-cumaranonei ci numai a fizetolului — derivatul de condensare aciclic — cu randament de 41 %:



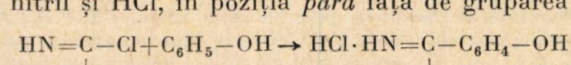
Pentru lămurirea mecanismului reacției de condensare cercetat, cum și a influenței substituenților din nucleul fenolic asupra mersului reacției, trebuie menționate lucrările publicate de H o u b e n în 1926—1927 [5] și [6], privitoare la condensările între nitrili și compuși fenolici; materiile prime folosite în încercările sale sînt, pe de o parte, acetonitrilul, benzonitrilul și mono-, di- și tricloracetonitrilii, iar pe de altă parte, fenolul, rezorcina, floroglucina, α- și β-naftolii și eterii lor. Concluziile principale ale acestor lucrări sînt următoarele:

1. Există două mecanisme posibile ale reacției de condensare între un nitril și un compus fenolic și anume:

a) Formarea unui iminoeter-clorhidrat, prin reacția fenolului cu nitrilul, urmată de o transpoziție în *para*, de la grupa funcțională la nucleu:



b) Substituția directă a nucleului aromatic cu clorura de imină formată intermediar din nitril și HCl, în poziția *para* față de gruparea — OH fenolică:



Faptul că prin nici un mijloc încercat (încălzire în absența sau prezența clorurii de zinc, fără și sub presiune) nu s-a reușit realizarea transpoziției unui iminoeter-clorhidrat (s-a lucrat cu produsul obținut din α-naftol) în cetimin-clorhidratul corespunzător, l-a dus pe autor la concluzia că cele două reacții prezentate mai sus, formarea iminoeter-clorhidratului și formarea cetimin-clorhidratului, sînt independente și, în unele cazuri (la α-naftol), simultane; în nici un caz însă nu decurg una din cealaltă, ca în mecanismul de reacție-*a)*.

Condensarea între monofenoli și nitrili are loc prin formarea iminoeter-clorhidratului, compus instabil în prezența chiar a urmelor de apă și care se descompune în contact cu apa, dînd fenolul inițial. Condensarea între polifenoli și nitrili decurge după schema *b)*, rezultînd cetimin-clorhidrați și din aceștia, cetonele corespunzătoare. α-Naftolul reacționează paralel, în ambele moduri, obținîndu-se atît iminoeterul cît și cetona respectivă, iar β-naftolul formează numai iminoeter-clorhidrați.

2. Substituenții nucleului fenolic au o influență determinată asupra mersului reacției de condensare și anume:

— O acțiune de favorizare a condensării o au grupele: *o*-CH_3, *m*-OR (pozițiile substituienților sînt date în raport cu gruparea — OH fenolică).

— O acțiune inhibantă asupra condensării o prezintă grupele: *o*-X, *m*-CH_3, *p*-OR, *o*-NO_2, *o*-$NHCOCH_3$, *o*-COOH

Pornind de la datele din literatură de mai sus, în lucrarea noastră ne-am propus să încercăm posibilitățile de condensare a glicolo-nitrilului *) cu polifenoli ca: rezorcina, hidrochinona, pirogalolul și floroglucina, eteri fenolici ca guajacolul și naftoli: α- și β-naftolul.

S-a pus la punct, în acest scop, o metodă de preparare a glicolo-nitrilului și o metodă generală de condensare a acestuia cu fenoli, descrise pe larg la partea experimentală.

Trebuie reamintit că în literatura publicată pînă acum, cercetările asupra posibilităților de utilizare a glicolo-nitrilului în sinteza Hoesch-Houben, pentru obținerea dehidroxi-acetofenonelor fenolice s-au mărginit la condensările acestui oxinitril cu rezorcina [3] și [4], floroglucina [3] și eterii monometilic și dimetilic ai rezorcinei [3], existînd o controversă în ceea ce privește structura produșilor formați din polifenoli cu cel puțin o grupă — OH neeterificată: pe cînd în lucrarea [3] se preparaseră pe această cale derivații oxi-cumaranonici ai rezorcinei și floroglucinei, rezultați în urma unei reacții de eterificare între grupările — OH fenolică și — OH alcoolică ale produșilor de condensare a polifenolilor respectivi cu glicolo-nitrilul, în cercetări ulterioare [4] nu s-a reușit să se obțină, în aceleași condiții, decît fizetolul — ω-oxi-rezaceto-fenona — eterificarea ne mai avînd loc.

În nici una din aceste două lucrări nu se găsesc descriși cetimino-clorhidrații formați intermediar în reacția de condensare.

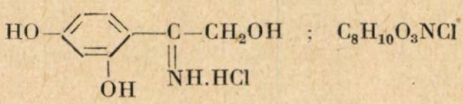
În urma cercetărilor noastre, am obținut pe această cale de sinteză unele ω — hidroxicetone fenolice și naftolice, nedescrise în literatură, izolînd și iminoclorhidrații respectivi; am putut ajunge la o concluzie în privința controversei mai sus-menționate asupra structurii oxi-cetonice sau cumaranonice a produșilor de reacție cu polifenolii și am tras unele concluzii în legătură cu influența anumitor substituenți ai nucleului fenolic asupra mersului reacției de condensare.

*) Este de remarcat că această substanță a fost puțin utilizată în cercetarea științifică.

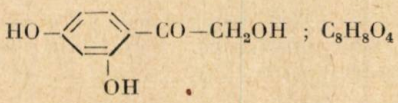
Rezultatele lucrării noastre, așa cum reies din partea experimentală expusă în continuare, sînt următoarele:

1) S-au sintetizat pe calea sintezei Hoesch-Houben următorii produși:

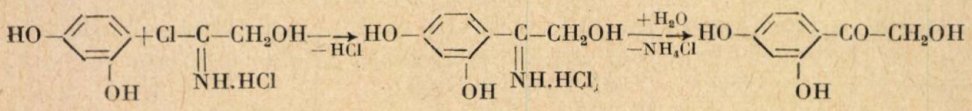
a) Clorhidratul ω-oxi-2,4 dioxi-acetofenoniminei, nedescris în literatură:



-ω-oxi-2,4-dioxi-acetofenona (ω-oxi-rezacetofenona), descrisă în [4]:

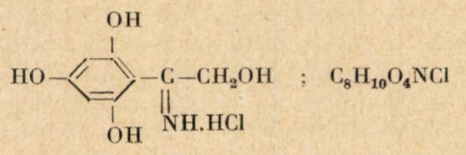


Cele două substanțe s-au obținut în reacțiile:

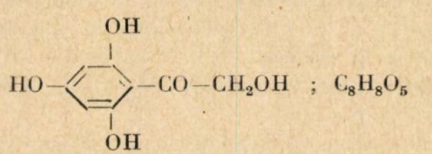


Atît proprietățile substanței preparate de noi, cît și datele analizei elementare, corespunzînd combinației cu formula de mai sus, controversa între structura cumaranonică și cea oxi-cetonică a produsului de condensare se rezolvă deci în favoarea structurii oxi-cetonice.

b) Clorhidratul ω-oxi-2,4,6-trioxi-acetofenoniminei, nedescris în literatură:

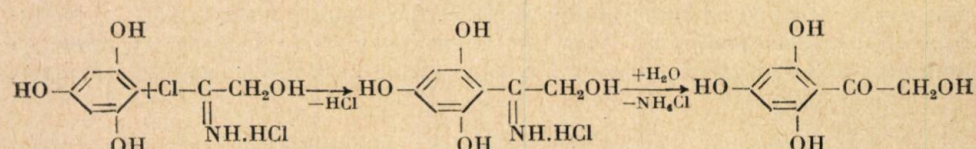


-ω-oxi-2,4, 6-trioxi-acetofenona (ω-oxi-floracetofenona), nedescrisă în literatură:

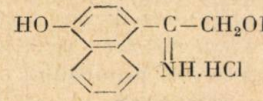


Ca și în cazul precedent, analiza elementară a acestei oxi-cetone corespunde produsului neeterificat și nu celui cumaranonic obținut în lucrarea [4].

Cele două substanțe s-au obținut în reacțiile:



c) Clorhidratul hidroximetil- (4-hidroxi-naftil-1-)cetoniminei, nedescris în literatură:

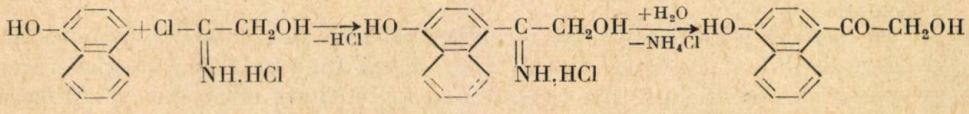


$C_{12}H_{12}O_2NCl$

— Hidroximetil-(4-hidroxi-naftil-1-)cetona, nedescrisă în literatură:

$C_{12}H_{10}O_3$

Cele două substanțe s-au obținut în reacțiile:



d) Un produs cu structură necunoscută, format din condensarea glicolonitrilului cu β-naftolul, cu formula brută, rezultată din analiza elementară, $C_{19}H_{13}O$, a cărui structură este în curs de cercetare.

2) Condensările glicolo-nitrilului cu rezorcina și floroglucina, efectuate de noi, dînd produși ale căror formule stabilite prin analiza elementară corespund structurii oxi-cetonelor respective, rezultă că, în condițiile de lucru indicate în continuare, nu se obțin, prin condensarea glicolo-nitrilulului cu polifenolii, decît produșii de condensare cu catenă acilică — oxi-cetonici —, care nu suferă o eterificare intramoleculară, pentru a trece în derivați cumaranonici cum se menționează în [3]. Pentru unul din acești produși — cel format din condensarea glicolo-nitrilului cu rezorcina, observația noastră corespunde cu rezultatul obținut de K a r r e r [4] și menționat în controversa citată mai sus. De altfel, nici proprietățile produșilor obținuți de noi (p. t., reacția de culoare cu clorură ferică) nu corespund celor indicate pentru compușii oxi-cumaranonici respectivi, descriși în [3] *).

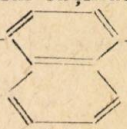
3) În încercările noastre cu pirogalolul, hidrochinona și guajacolul, nu s-au putut obține produșii așteptați de condensare cu glicolo-nitril, decît doar cu un randament foarte mic, de circa 5 %, în cazul guajacolului. Am ajuns de aici la concluzia că grupele — OH și — OCH_3 în poziția *orto* și grupa — OH în poziția *para* a nucleului fenolic inhibă reacția de condensare. Nici una din aceste reacții nu sînt specificate în literatură.

În urma reacției între glicolo-nitril și hidrochinonă, am constatat că din produsul de reacție — descompus pe gheață — se separă o cantitate apreciabilă de hidrochinonă; soluția rămasă, după cîtva timp, depune din nou hidrochinonă, acest fenomen repetîndu-se după fiecare filtrare pînă la recuperarea practic cantitativă a hidrochinonei introduse inițial în reacție. Am presupus că aceasta se datorește probabil descompunerii treptate, în mediu apos, a iminoeter-clorhidratului respectiv; se poate presupune că formarea acestuia a avut loc, nefiind posibilă substituția, deoarece poziția *para* a nucleului era ocupată de o grupare — OH.

4) Trebuie observat că încercări de condensare ale α și β-naftolilor cu glicolo-nitril nu sînt menționate în literatură; rezultatul obținut de noi arată

*) Această lucrare, p. 117 și 118.

că aceste reacții decurg asemănător schemei descrise în [5] pentru condensările de același tip cu aceto-nitril și clor-acetonitrili și anume:

-α-Naftolul reacționează cu glicolo-nitrilul cu formarea cetiminclorhidratului și apoi a oxi-cetonei corespunzătoare reacției normale de substituție în poziția *para*. Analiza elementară a produsului obținut de noi, cu un randament de 40 %, corespunde compusului: HO  —CO—CH_2OH.

— În cazul β-naftolului, cea mai mare parte (90 %) din β-naftolul inițial reacționează, probabil, cu formarea iminoeterului respectiv, produsul de reacție descompunîndu-se treptat, în contact cu apa, în β-naftol, care se recuperează.

În lucrarea [5] se menționau ca unice produse de reacție a β naftolului cu acetonitrilul și clor-acetonitrilul clorhidrații iminoeterilor corespunzători. În încercările noastre, s-a mai format însă, în cantitate mică, din reacția între β-naftol și glicolo-nitril, un produs cu structură necunoscută*), izolabil în stare foarte pură, frumos cristalizat în foițe albe-strălucitoare, cu p. t. = 203—204°; formula brută determinată din datele analizei elementare — $C_{19}H_{13}O$— nu a putut fi încă interpretată, rămînînd să continuăm cercetările asupra structurii acestei combinații.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. Prepararea glicolo-nitrilului

Prepararea glicolo-nitrilului (formaldehid cianhidrină), din cianură de potasiu și soluție de formaldehidă, s-a pus la punct, plecînd de la indicațiile din literatură [5], [7], [8], [9], [10], [11] și [12] după următorul procedeu de lucru.

— *Aparatura*: balon de 2 litri cu 3 gîturi, prevăzut cu agitator (KPG), pîlnie de picurare, termometru și conductă de evacuare pentru eventualul acid cianhidric degajat, răcire în baie cu amestec refrigerent gheață-sare.

— *Modul de lucru*: într-o soluție de cianură de potasiu 34 % (195 g KCN 100 % = 3 moli, în 375 cm^3 apă), se picură sub agitare și răcire 255 cm^3 soluție de CH_2O 37 %, menținînd temperatura între 0 și 5° (max. 10°) (raport molar CH_2O : KCN=1,2:1). După terminarea picurării, amestecul de reacție se mai agită o oră la aceeași temperatură și se picură apoi o soluție de H_2SO_4 50% (din 200 cm^3 H_2SO_4 conc. și 370 cm^3 apă) (raport molar H_2SO_4: KCN = 0,6:1), sub agitare și răcire, menținînd temperatura la 0—5° (max. 10°); la atingerea unui pH = 7—7,5 soluția devine brusc albastră. Amestecul de reacție se filtrează la trompă de K_2SO_4 format și se extrage cu eter într-un aparat de extracție continuă. După uscare pe $CaCl_2$, eterul se evaporă pe baie și se distilă glicolo-nitrilul în vid, pe coloniță Vigreux. Se culege întîi un cap și apoi fracțiunea principală la 100—110°/10 mm. Se obțin 120—130 g glicolo-nitril; randament = 70 — 75 %.

Glicolo-nitrilul este un lichid incolor pînă la slab-gălbui, colorîndu-se cu timpul în galben, solubil în apă, alcool, eter, dioxan și insolubil în benzen; are o tendință pronunțată de polimerizare în mediu alcalin.

*) Această lucrare, p. 115, punctul 1) *d*).

2. Condensările glicolo-nitrilului cu fenoli

— *Aparatura*: balon cu 3 gîturi de 200—300 cm³, prevăzut cu agitator (KPG), refrigerent ascendent, prelungit cu o conductă de evacuare pentru eliminarea acidului clorhidric în exces (cu tub de $CaCl_2$ la capăt), termometru și pîlnie de picurare, care în a doua fază a reacției se înlocuiește cu o țeavă de barbotare pentru acid clorhidric gazos.

— *Modul de lucru*: clorura de zinc topită și mojarată sub eter absolut se introduce în balonul de reacție, sub formă de suspensie în eter, adăugîndu-se apoi treptat fenolul respectiv, sub agitare și eventuală răcire (temp.=10—15°), (raport molar $ZnCl_2$: fenol=1,3:1); se picură apoi, sub agitare și răcire (10—15°) glicolo-nitrilul (raport molar nitril: fenol = 1:1). Se începe barbotarea de acid clorhidric gazos, uscat în prealabil prin trecere printr-un vas spălător cu H_2SO_4 concentrat, sub agitare foarte energică și răcire (absorbția acidului clorhidric este exotermă), menținînd temperatura între 10—15°. După un anumit timp variabil cu natura fenolului utilizat, amestecul de reacție se colorează, devenind din ce în ce mai vîscos, pînă la formarea unei mase păstoase, agitarea ne mai fiind uneori posibilă la sfîrșit. După saturare cu HCl, amestecul se lasă peste noapte sub atmosferă de HCl, și se descompune apoi prin turnarea lui peste un amestec de apă și gheață. Soluția apoasă se spală de 2—3 ori cu eter, pentru eliminarea fenolului nereacționat. În cazul separării cetimin-clorhidratului, acesta se recristalizează și se hidrolizează prin încălzire (eventual fierbere) cu puțină apă slab-acidulată cu HCl. Hidroliza se poate face și direct din soluția cetimin-clorhidratului, dacă acesta nu precipită, prin încălzirea soluției la reflux. Cetona obținută cristalizează la răcire, recristalizîndu-se apoi.

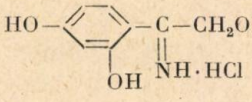
Condensările efectuate după această metodă generală de lucru au fost:

a) *Condensarea rezorcinei cu glicolo-nitril*

S-a lucrat cu: 12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 22 g (0,2 moli) rezorcină; 35 g (0,26 moli) $ZnCl_2$; 80 cm³ eter absolut.

După 3 ore de barbotare a HCl, s-a obținut o masă roșiatică, foarte vîscoasă; prin descompunere pe gheață, s-au separat 5 g precipitat foarte fin (*A*-clorhidratul iminei). Filtratul conținînd în soluție restul clorhidratului de imină s-a încălzit la fierbere, jumătate de oră, formîndu-se după răcire, o masă de cristale incolore (*B*-cetonă); același produs s-a obținut și prin încălzirea la fierbere a compusului *A* cu 15 cm³ apă acidulată cu 1 cm³ HCl, jumătate de oră, ceea ce dovedește că produsul *A*, separat intermediar, este clorhidratul iminei respective. Rand.$_A$ = 54 %; rand.$_B$ = 48 %.

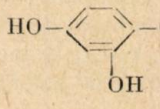
Produsul *A*: cristale alb-gălbui; p. t. = 113°; parțial solubil în apă, solubil în alcool și acetonă, insolubil în eter; structură: clorhidratul ω-2,4-dioxi-acetofenoniminei:



$C_8H_{10}O_3NCl$

Produsul *B*: cristale incolore; p. t. = 190—191° (recristalizat din apă); solubil în apă la cald, alcool și acetonă, insolubil în eter și benzen; solubil în

soluție de NaOH 20 %, fără colorație; cu $FeCl_3$ dă o colorație roșie închis; structura: ω-oxi-2,4,-dioxi-acetofenona:

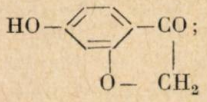


$C_8H_8O_4$

Analiza:

Calculat: C 57,14; H 4,76
Găsit: 56,96; 4,80

Trebuie remarcat că atît proprietățile cît și datele analizei elementare ale oxi-cetonei *B* preparate de noi corespund celor ale produsului de condensare aciclic obținut de K a r r e r pe aceeași cale [4] (p. t. = 189—190°), și nu celor ale produsului oxi-cumaranonic, obținut în [3], cu următoarele însușiri:



$C_8H_6O_3$; p.t. 260°; dă colorație cu $FeCl_3$

Analiza:

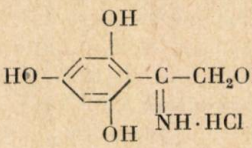
Calculat: C 64,00; H 4,00

b) *Condensarea glicolo-nitrilului cu floroglucină*

S-a lucrat cu: 12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 25 g (0,2 moli) floroglucină; 35 g $ZnCl_2$ (0,26 moli); 80 cm^3 eter absolut.

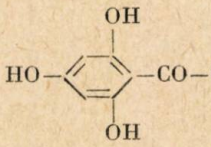
Floroglucina, la început incomplet solubilă în eter, s-a dizolvat după începerea barbotării acidului clorhidric, dînd o soluție roșie închis, din ce în ce mai vîscoasă, a cărei culoare se deschide treptat; după 2 ore, s-a obținut o masă compactă, galbenă deschis. După descompunere pe gheață, s-a format un precipitat galben voluminos (*A* — clorhidratul iminei), care s-a recristalizat prin precipitare cu eter din soluție alcoolică. Prin încălzirea produsului *A* cu puțină apă, la fierbere, s-a obținut un precipitat cenușiu-gălbui, care s-a recristalizat din apă (*B*-cetona). Rand.$_A$ = 60 %; rand.$_B$ = 51 %.

Produsul *A*: cristale incolore; p. t. peste 300° (cu desc.); solubil în alcool și acetonă, în apă la cald, insolubil în eter și benzen; structură: clorhidratul ω-oxi-2, 4, 6-trioxi-acetofenoniminei:



$C_8H_{10}O_4NCl$

Produsul *B*: cristale alb-gălbui, p. t. = 226° (recristalizat din apă); solubil în alcool și acetonă, în apă la cald, insolubil în eter și benzen; solubil în NaOH 20 % la rece, cu colorație galbenă intens; structura: ω-oxi-2, 4, 6-trioxi-acetofenona:

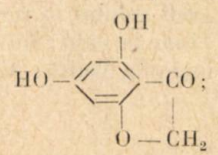


$C_8H_8O_5$

Analiza:

Calculat: C 63,15; H 5,26
Găsit : 62,88; 5,23

Atît clorhidratul iminei cît și oxi-floracetofenona nu au fost încă obținute pe această cale; conform analizei elementare, am atribuit produsului obținut de noi structura reprezentată prin formula de mai sus, spre deosebire de cea a oxi-cumaranonei obținute în [3], cu următoarele proprietăți și formulă:



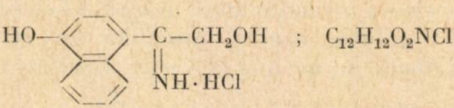
$C_8H_6O_2$, p.t. = 248°; analiza: C 71,64; H 4,47

c) *Condensarea glicolo-nitrilului cu α-naftol*

S-a lucrat cu: 12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 29 g (0,2 moli) α-naftol; 35 g (0,26 moli) $ZnCl_2$; 80 cm³ eter absolut.

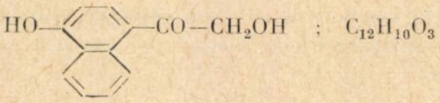
După 2 ore și 30 minute de reacție, s-a obținut o masă păstoasă, foarte consistentă, verde-neagră. La descompunerea pe gheață, s-au format 50 g precipitat abundent galben închis, cu p. t. = 197 — 198° (reprecipitat cu eter din soluția alcoolică) (*A*-clorhidratul iminei). Prin încălzirea la fierbere a soluției apoase a acestuia, s-a obținut un produs cristalin alb-gălbui, cu p. t. = 142 — 143° (recristalizat din apă) (*B*-cetonă). $Rand_A = 47\ \%$; $rand_B = 40\ \%$.

Produsul *A*: cristale alb-gălbui; p. t. = 197—198° (reprecipitat cu eter din soluție alcoolică concentrată); solubil în alcool și acetonă, foarte greu solubil în apă, insolubil în eter și benzen; structura: clorhidratul hidroxi-metil (4-hidroxi-naftil-1-)cetoniminei:



$C_{12}H_{12}O_2NCl$

Produsul *B*: cristale roz deschis; p. t. = 142—143° (recristalizat din apă); solubil în alcool și acetonă, în apă la cald, insolubil în eter și benzen; solubil în alcool diluat la cald; solubil în NaOH 20 % la rece, cu colorație galbenă; cu $FeCl_3$ dă în soluție alcoolică o culoare roșu-vișinie, și în soluție apoasă o colorație verzuie; structura: hidroxi-metil(4-hidroxi-naftil-1-)cetona:



$C_{12}H_{10}O_3$

Analiza:

Calculat:	C 71,29;	H 4,95
Găsit:	71,41;	4,88

Atît clorhidratul iminei cît și cetona, obținute din α-naftol, nu s-au mai preparat pe această cale.

d) *Condensarea glicolo-nitrilului cu β-naftol*

S-a lucrat cu: 12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 29 g (0,2 moli) β-naftol; 35 g (0,26 moli) $ZnCl_2$; 70 cm³ eter absolut.

După 5 ore și 30 de minute de reacție s-a format un produs gălbui, puțin vîscos; la descompunerea pe gheață s-au separat 3 g produs roz-gălbui foarte fin *A*, cu p. t. = 200—202°, care nu a suferit nici o modificare prin fierbere în soluție acidă diluată, 4—5 ore și apoi, același timp în HCl conc. Din soluția

eterică rămasă, s-a separat un precipitat abundent amorf, uleios, roz-gălbui, nerecristalizabil, din care s-a recuperat prin distilare în vid 90 % din β-naftolul inițial.

Produsul *A*: cristale incolore, mătăsoase, strălucitoare; p. t. = 203—204° (recristalizat din acetonă); solubil în acetonă la cald, greu solubil la rece, insolubil în apă, eter și benzen; insolubil în NaOH 20 %, chiar la cald; nu se colorează în soluție de NaOH; cu $FeCl_3$ nu dă coloratie; formula brută: $C_{19}H_{13}O$; structura încă nedeterminată, în curs de cercetare

Analiza:

Găsit: C 88,95; H 4,89

e) *Condensarea glicolo-nitrilului cu hidrochinonă*

S-a lucrat cu: 12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 22 g (0,2 moli) hidrochinonă; 35 g (0,26 moli) $ZnCl_2$; 80 cm^3 eter absolut.

După 10 ore de reacție, s-a format, la descompunerea pe gheață, un precipitat abundent, roz-gălbui, cu p. t. = 170—172° corespunzînd hidrochinonei. Filtratul rămas a depus după un scurt timp o nouă cantitate de precipitat, identic cu primul și fenomenul acesta s-a repetat după fiecare filtrare. S-au obținut astfel 19 g hidrochinonă, recuperarea ei fiind deci aproape cantitativă.

f) *Condensarea glicolo-nitrilului cu pirogalol*

S-a lucrat cu: 12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 25 g (0,2 moli) pirogalol; 35 g (0,26 moli) $ZnCl_2$; 80 cm^3 eter absolut.

După 5 ore de reacție s-a format o masă neagră, vîscoasă și sticloasă, complet solubilă în apă, dînd o soluție neagră, miscibilă cu eterul. Toate încercările de prelucrare ulterioară nu au dus la vreun rezultat concludent.

g) *Condensarea glicolo-nitrilului cu guajacolul*

S-a lucrat cu :12 g (0,2 moli) glicolo-nitril; 25 g (0,2 moli) guajacol; 35 g (0,26 moli) $ZnCl_2$; 80 cm^3 eter absolut.

După 2 ore de reacție, s-a obținut un produs de viscozitate potrivită, negru-violet, care a separat, după descompunerea pe gheață, un strat eteric, din care s-a recuperat prin distilare circa 60 % din guajacolul inițial. Din stratul apos, încălzit la fierbere o oră, s-a separat, după 2 zile, un produs cristalin brun închis, în cantitate mică (circa 2 g), cu p. t. = 77—80°, care nu s-a putut însă recristaliza.

Institutul de cercetări chimice, București

Prezentată la redacție la 14 iulie 1955

ПОЛУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ГИДРОКСИАЦЕТОФЕНОНОВ ПОСРЕДСТВОМ РЕАКЦИИ ГИДРОКСИАЦЕТИЛИРОВАНИЯ ФЕНОЛОВ ГЛИКОЛОНИТРИЛОМ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В настоящей работе преследовалась цель получения некоторых гидроксиацетофенонов полифенолов и нафтолов путем совместной конденсации полифенолов или нафтолов и гликолонитрила. Была изучена конден-

сация гликолонитрила с резорцином, флороглюцином, гидрохиноном, пирогаллолом, гваяколом, α- и β-нафтолом.

Был установлен общий метод работы, состоящий в пропускании сухого хлористоводородного газа через эфирный раствор реагирующих веществ, взятых в равномолекулярном отношении, в присутствии молярного избытка безводного хлористого цинка (1,3:1); выделенные в промежуточной стадии иминохлоргидраты, будучи подвергнуты гидролизу в водном, слегка подкисленном растворе, дают соответствующие оксикетоны.

Были выделены и описаны кетиминохлоргидраты и оксикетоны, происходящие от реакций между гликолонитрилом, с одной стороны, и резорцином, флороглюцином и α-нафтолом, с другой; кроме резацетофенона, приготовление которого этим путем было указано в работе (4), ни одно из этих соединений не описано в литературе.

Было доказано, что из резорцина и флороглюцина получаются α-оксикетонные продукты конденсации, а не кумараноновые производные внутримолекулярной этерификации как в (3).

На основании проведенных испытаний было выведено заключение, что гидрохинон и пирогаллол не могут быть замещены гликолонитрилом, а гваякол может быть замещен лишь в весьма ограниченной мере, благодаря угнетающему действию групп *o*-OH, *p*-OH и *o*-OCH_3. Ни одна из этих реакций не упомянута в литературе.

Было испробовано конденсирование гликолонитрила с α- и β-нафтолами, не упомянутое в литературе, и получены следующие результаты: из α-нафтола получился замещенный оксикетонный продукт в позиции пара, причем был выделен и промежуточный иминохлоргидрат; из β-нафтола было получено кристаллическое соединение с т. пл. 203—204°, с общей формулой $C_{19}H_{13}O$, строение которого еще не могли определить. Остальное количество β-нафтола реагирует, вероятно, с гликолонитрилом, с образованием хлоргидрата соответствующего иминоэфира, из которого в присутствии воды рекуперируется β-нафтол.

Подобное же явление вероятного образования иминоэфира наблюдалось и у гидрохинона.

PRÉPARATION DE QUELQUES ω-HYDROXY-ACÉTOPHÉNONES AU MOYEN D'UNE RÉACTION D'HYDROXY-ACÉTYLATION DES PHÉNOLS AU GLYCOLONITRILE

(RÉSUMÉ)

Dans le présent travail, on a étudié la préparation de certaines hydroxy-acétophénones des polyphénols et naphtols par condensation entre polyphénols ou naphtols et glycolonitrile. On a étudié les condensations du glycolonitrile avec la résorcine, la phloroglucine, l'hydroquinone, le pyrogallol, le gaïacol, l'α- et le β-naphtol.

— On a mis au point une méthode générale de travail, consistant à faire barboter un courant d'acide chlorhydrique gazeux, sec, dans la solution éthérique des réactants, pris en rapport équimoléculaire, en présence d'un excès molaire de 1,3: 1 de $ZnCl_2$ anhydre; les imino-chlorhydrates, isolés comme

produits intermédiaires et hydrolysés en solution aqueuse, légèrement acidulée, donnent les oxycétones respectives.

— On a isolé et décrit les cétimino-chlorhydrates et les oxycétones, résultant des réactions du glycolonitrile avec la résorcine, la phloroglucine et l' α-naphtol; à l'exception de la résacétophénone, dont la préparation par cette voie a été indiquée dans la communication (4), aucun de ces produits n'a été décrit dans la littérature.

— On a démontré qu'on obtient à partir de la résorcine et de la phloroglucine, des produits de condensation α-oxycétonique et non des dérivées cumaranoniques de l'éthérification intramoléculaire comme dans (3).

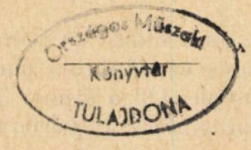
— On a déduit, des expériences effectuées, que l'hydroquinone et le pyrogallol ne peuvent être substitués par le glycolonitrile; quant au gaïacol, il ne peut être substitué que dans une très faible mesure, grâce à l'action inhibitrice des groupements o-OH, p-OH et o-OCH_3. Aucune de ces réactions n'est indiquée dans la littérature.

— On a essayé de condenser le glycolonitrile avec les α- et β-naphtols, non mentionnés dans la littérature, avec les résultats suivants: l' α-naphtol a donné naissance à un produit oxycétonique de substitution, en position para et, en même temps, on a isolé l'imino-chlorhydrate intermédiaire; à partir du β-naphtol, on a obtenu un produit cristallin à point de fusion de 203—204°, ayant pour formule brute $C_{19}H_{13}O$, dont la structure n'a pas encore pu être déterminée. Le reste du β-naphtol réagit, probablement, avec le glycolonitrile, avec formation du chlorhydrate de l'iminoéther respectif, à partir duquel on récupère le β-naphtol par contact avec l'eau.

Le même phénomène de formation probable de l'iminoéther a également été observé pour l'hydroquinone.

BIBLIOGRAFIE

1. K. Hoesch, Ber., **48,** 1122 (1915).
2. K. Hoesch, T. von Zarzecki, Ber., **50,** 462 (1917).
3. W. K. Slater, H. Stephan, J. Chem. Soc., **117,** 309 (1920).
4. P. Karrer, H. Biedermann, Helv. Chim. Acta, **10,** 441 (1927).
5. J. Houben, Ber., **59,** 2878 (1926).
6. J. Houben, W. Fischer, Ber., **60,** 1759 (1927).
7. K. Polstoff, H. Mayer, Ber., **45,** 1911 (1912).
8. J. Löbering, K. P. Jung, Ber., **69,** 2147 (1936).
9. ***, Bv. germ. 654713/1938; Chem Zentr., 1938, **I,** 2059.
10. ***, Bv. germ. 659193/1938; Chem. Zentr., 1938, **II,** 593.
11. ***, Bv. amer. 2175805/1939; Chem. Zentr., 1940, **I,** 1567.
12. ***, Ber. Ges. Kohlentechn., **5,** 314 (1950); Chem. Abstr. 900 e, 1952.
13. W. Baker, J. Chem. Soc., 1930, 1015.



ABONAMENTELE SE FAC LA OFICIILE POȘTALE,
PRIN FACTORII POȘTALI ȘI DIFUZORII VOLUNTARI
DIN ÎNTREPRINDERI ȘI INSTITUȚII

INTREPRINDEREA
POLIGRAFICĂ nr. 4
BUCUREŞTI

Lei 5.—

F. 947

KAT

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

Institut. de Documentare Tehnică
BUCUREȘTI
OLMEH - C E
VYMĚNA - WYMIANA
TAUSCH - CMEHA

STUDII ȘI CERCETĂRI DE CHIMIE

3-4

ANUL IV

IULIE — DECEMBRIE 1956

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE

3-4

ANUL IV

IULIE—DECEMBRIE 1956

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITETUL DE REDACȚIE

ACADEMICIAN C. D. NENIȚESCU, redactor responsabil; ACADEMICIAN R. RIPAN; ACADEMICIAN R. CERNĂTESCU; ACADEMICIAN I. TĂNĂSESCU; ACADEMICIAN E. MACOVSCHI; E. ANGELESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; C. N. IONESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; C. DRĂGULESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; S. OERIU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE

Tomul IV, nr. 3—4 Iulie—decembrie 1956

SUMAR

Pag.

A. DUCA, Metode polarografice pentru determinarea raportului dintre alcaline (Na/K), fără separare chimică prealabilă 131

L. KÉKEDY şi E. HAJDU, Contribuţii la dozarea polarografică a vitaminei K_3 145

C. BODEA şi A. MOLDOVAN, Asupra acţiunii carotinoidelor în procese de autoxidare şi polimerizare. Nota V. Autoxidarea şi polimerizarea disacrilică a acroleinei în prezenţă de α- şi β-carotină 161

C. BODEA, M. FLORESCU şi J. GROSS, Asupra acţiunii carotinoidelor în procese de autoxidare şi polimerizare. Nota VI. Funcţionarea xantofilei, licopinei şi a crocetinei ca acceptori de oxigen peroxidic 167

L. STOICESCU-CRIVETZ şi L. MĂNDĂŞESCU, Acţiunea antituberculoasă a unor hidrazide şi hidrazone derivate din acizii *p*-amino-*o*-halogeno-benzoici 175

LADISLAU BALOGH, Schimbările proprietăţilor coloidale ale solurilor de lecitină sub acţiunea oxigenului 183

GHEORGHE CIUHANDU, Un reactiv pentru urmărirea oxidului de carbon în aer. Combinaţia de argint a acidului *p*-sulfonamido-benzoic 189

I. TĂNĂSESCU, F. HODOŞAN şi I. JUDE, Despre steroide (VIII). Contribuţii la sinteza acetatului dezoxicorticosteronei 201

COSTIN D. NENIŢESCU, ŞERBAN ŢIŢEICA şi VIORICA IOAN, Despre mecanismul reacţiilor de alchilare ale nucleului aromatic. Reacţii de alchilare ale benzenului, catalizate de acizi protonici 207

G. SPACU şi J. SCHERZER, O nouă metodă de determinare colorimetrică a cuprului 219

I. TĂNĂSESCU şi Z. FRENKEL, Despre acridone. (XV). Condensarea 2,4- dinitrobenzaldehidei cu clor- şi brom-benzen 227

RADU VLĂDESCU, Aparat simplu permiţînd determinarea viscozităţii şi a tensiunii superficiale relative a lichidelor biologice 235

RADU VLĂDESCU şi ANGELA CIOCOIU, Tensioviscozimetrul aplicat la controlul laptelui 239

E. SORU, C. BARBER, S. TOMA, V. GRIŢAENCO şi B. BOGOKOWSKI, Contribuţii la studiul vaccinurilor antitifo-paratifice din extracte microbiene. II. Studiul chimic comparativ al unor antigene somatice extrase din *S. Typhi* 243

EUGENIA SORU şi M. ŞTERNBERG, Studiul metabolismului oxidativ cu ajutorul clorurii de trifeniltetrazoliu la germenii anaerobi 263

EUGEN MACOVSCHI şi SORIN COMOROŞAN, Cercetări conductometrice asupra exosmozei electroliţilor din piele. Notă preliminară 271

ANA EPERJESSY, ÁRPAD KISS, IOLANDA CSEGEDI, EMERIC MAKKAI şi LADISLAU NEMES, Contribuţii privind biochimia lipoproteidelor. . 279

DAN C. COSTESCU şi GUSTAV SZÉKELY, O nouă metodă de laborator pentru prepararea butadienei prin cracarea ciclohexanului 299

M. ŞTERNBERG, O metodă de dozare colorimetrică a acidului penicilic . . . 315

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE CHIMIE

Tome IV, n° 3—4 Juillet—décembre 1956

SOMMAIRE

Page

A. DUCA, Méthodes polarographiques pour la détermination du rapport entre les métaux alcalins (Na/K) sans séparation chimique préalable 131

L. KÉKEDY et E. HAJDU, Contribution au dosage polarographique de la vitamine K_3 145

C. BODEA et A. MOLDOVAN, L'action des carotinoïdes dans les processus d'auto-oxydation et de polymérisation. Note V. L'auto-oxydation et la polymérisation disacrylique de l'acroléine en présence de la carotine α ou β 161

C. BODEA, M. FLORESCU et J. GROSS, L'action des carotinoïdes dans les processus d'auto-oxydation et de polymérisation. Note VI. Le fonctionnement de la xanthophile, de la lycopène et de la crocétine comme accepteurs d'oxygène peroxydique 167

L. STOICESCU-CRIVETZ et L. MĂNDĂŞESCU, L'action antituberculeuse de quelques hydrazides et hydrazones dérivées des acides *p*-amino-*o*-halogénobenzoïques 175

LADISLAU BALOGH, Le changement des propriétés colloïdales des sols de lécithine sous l'action de l'oxygène 183

GHEORGHE CIUHANDU, Un réactif qui permet de déceler l'oxyde de carbone dans l'air. La combinaison d'argent de l'acide *p*-sulfonamido-benzoïque 189

I. TĂNĂSESCU, F. HODOŞAN et I. JUDE, Sur les stéroïdes. (VIII). Contribution à la synthèse de l'acétate de la désoxycorticostérone 201

COSTIN D. NENIŢESCU, ŞERBAN ŢIŢEICA et VIORICA IOAN, Sur le mécanisme des réactions d'alcoylation du noyau aromatique. Réactions d'alcoylation du benzène catalysées par des acides protoniques. 207

G. SPACU et J. SCHERZER, Une nouvelle méthode de détermination colorimétrique du cuivre 219

I. TĂNĂSESCU et Z. FRENKEL, Sur les acridones (XV). Condensation de la dinitro-2,4 benzaldéhyde avec le chloro- et le bromobenzène 227

RADU VLĂDESCU, Appareil simple pour déterminer la viscosité et la tension superficielle relative des liquides biologiques 235

RADU VLĂDESCU et ANGELA CIOCOIU, Application du tensioviscosimètre au contrôle du lait 239

E. SORU, C. BARBER, S. TOMA, V. GRIŢAENCO et B. BOGOKOWSKI, Contribution à l'étude des vaccins antitypho-paratyphiques. II. Etude chimique comparative des antigènes somatiques extraits de *S. Typhi* . 243

EUGENIA SORU et M. ŞTERNBERG, L'étude du métabolisme acydatif à l'aide du chlorure de triphényltétrazolium chez les germes anaérobes. 263

EUGEN MACOVSCHI et SORIN COMOROŞAN, Recherches conductométriques relatives à l'exosmose des électrolytes de la peau. Note préliminaire. . . 271

ANA EPERJESSY, ÁRPAD KISS, IOLANDA CSEGEDI, EMERIC MAKKAI et LADISLAU NEMES, Contributions à l'étude de la biochimie des lipoprotéides 279

DAN C. COSTESCU et GUSTAV SZÉKELY, Une nouvelle méthode de laboratoire pour la préparation du butadiène par cracking du cyclohexane 299

M. ŞTERNBERG, Méthode de dosage colorimétrique de l'acide pénicillique. . 315

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ХИМИИ

Том IV, № 3—4 Июль — декабрь 1956

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

А. ДУКА, Полярографические методы для определения соотношения щелочей (Na/K) без предварительного химического разделения 131

Л. КЕКЕДИ и Е. ХАЖДУ, К вопросу о полярографическом определении витамина K_3 145

К. БОДЯ и А. МОЛДОВАН, О действии каротиноидов в процессах самоокисления и полимеризации. Сообщение V. Дисакриловое самоокисление и полимеризация акролеина в присутствии каротинов α и β . 161

К. БОДЯ, М. ФЛОРЕСКУ и Ж. ГРОСС, О действии каротиноидов в процесссах самоокисления и полимеризации. Сообщение VI. Действие ксантофила, ликопина и кроцетина в качестве воспринимателей перекисного кислорода 167

Л. СТОЙЧЕСКУ-КРИВЕЦ и Л. МЭНДЭШЕСКУ, Противотуберкулезное действие некоторых гидразидов и гидразонов, производных *p*-амино-*o*-галоидбензойных кислот 175

Л. БАЛОГ, Изменение коллоидных свойств золей лецитина под действием кислорода 183

Г. ЧУХАНДУ, Реактив для выявления окиси углерода в воздухе—серебряное соединение *p*—сульфонамидобензойной кислоты 189

И. ТЭНЭСЕСКУ, Ф. ХОДОШАН и И. ЖУДЕ, О стероидах. (VIII). К вопросу о синтезе уксуснокислого дезоксикортикостерона 201

К. Д. НЕНИЦЕСКУ, Ш. ЦИЦЕЙКА и В. ИОАН, О механизме реакций алкилирования ароматического ядра. Реакции алкилирования бензола в присутствии протоновых кислот в качестве катализаторов . . . 207

Г. СПАКУ и Ж. ШЕРЦЕР, Новый метод колориметрического определения меди 219

И. ТЭНЭСЕСКУ и З. ФРЕНКЕЛЬ, Об акридонах (XV). Конденсация 2,4-динитробензальдегида с хлор- и бромбензолом 227

Р. ВЛЭДЕСКУ, Простой прибор, позволяющий определять вязкость и относительное поверхностное натяжение биологических жидкостей 235

Р. ВЛЭДЕСКУ и А. ЧОКОЮ, Применение тенсиовискозиметра для проверки качества молока 239

Е. СОРУ, К. БАРБЕР, С. ТОМА, В. ГРИЦАЕНКО и Б. БОГОКОВСКИЙ, К вопросу о брюшнотифозных тривакцинах из микробных экстрактов. II. Сравнительное химическое исследование некоторых соматических антигенов, выделенных из *S. Typhi* 243

Е. СОРУ и М. ШТЕРНБЕРГ, Исследование окислительного обмена веществ при помощи хлорида трифенилтетразола у анаэробных бактерий . . 263

Е. МАКОВСКИЙ и С. КОМОРОШАН, Кондуктометрические исследования экзосмоса электролитов кожи. Предварительное сообщение 271

А. ЭПЕРЖЕССИ и А. КИСС, К вопроссу об исследовании биохимии липопротеидов 279

Д. К. КОСТЕСКУ и Г. СЕКЕЛИ, Новый лабораторный метод приготовления бутадиена путем крекирования циклогексана 299

М. ШТЕРНБЕРГ, Метод колориметрического определения пенициллоновой кислоты 315

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

METODE POLAROGRAFICE PENTRU DETERMINAREA RAPORTULUI DINTRE ALCALINE (Na/K), FĂRĂ SEPARARE CHIMICĂ PREALABILĂ*)

DE

A. DUCA

În polarografia obişnuită (curentă), pentru a se obţine unde separate a doi componenţi diferiţi, în aceeaşi soluţie de bază, este nevoie de o diferenţă a potenţialelor de separare de cel puţin 0,2 V. Dacă diferenţa de potenţial se micşorează, undele devin confundate. Cu cît diferenţa corespunzătoare celor doi componenţi se măreşte, undele obţinute sînt mai bine definite, iar determinările practice devin mai exacte.

Prin metoda (polarografică) derivată se pot obţine unde distincte şi pentru o diferenţă de potenţial de 0,1 V, iar prin metoda derivatei duble se pot obţine unde distincte chiar pentru diferenţe mai mici de 0,1 V.

În cazul metalelor alcaline (Na, K), din cauza diferenţei prea mici a potenţialelor de reducere $(K_{1/2})_{Na} = -2{,}11$ V; $(E_{1/2})_K = -2{,}13$ V (diferenţa = 0,02 V), se poate determina polarografic numai suma lor. Pentru determinarea celor două componente, se determină suma lor, apoi se separă microchimic unul dintre componente prin metode cunoscute şi se determină polarografic, iar prin diferenţă se găseşte celălalt.

Fenomenul de *exaltare* (sau creştere) a curentului de migrare, prin descărcarea precedentă a unei substanţe fără sarcini [1] sau descărcarea precedentă a unui ion reductibil [2], după cele cunoscute din literatură, nu pot avea aplicaţii practice cantitative.

Din ecuaţia difuziunii, coeficientul de difuziune este direct proporţional cu mobilitatea ionilor

$$D = \frac{RT}{N}\delta \quad (\delta_{K^+} = 63{,}4 \text{ şi } \delta_{Na^+} = 45{,}3,\ t = 18°C).$$

Înseamnă că, pentru aceleaşi cantităţi de Na^+ şi K^+ se vor obţine, în aceleaşi condiţii de lucru, înălţimi diferite, ceea ce conduce, pe de o parte, la necesitatea unei corecţii [3], iar pe de altă parte, la posibilitatea

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Academiei R.P.R., Filiala Cluj, din martie 1954.

determinării practice a raportului dintre alcaline, fără separare chimică prealabilă.

Pentru evidențierea celor de mai sus, în figura 1, se redau cîteva rezultate obținute pentru aceleași cantități de Na^+ și K^+ în soluție de bază LiOH.

Bazat pe aceste diferențe s-a căutat să se găsească o metodă practică, simplă, rapidă și economică, pentru determinarea raportului dintre alca-

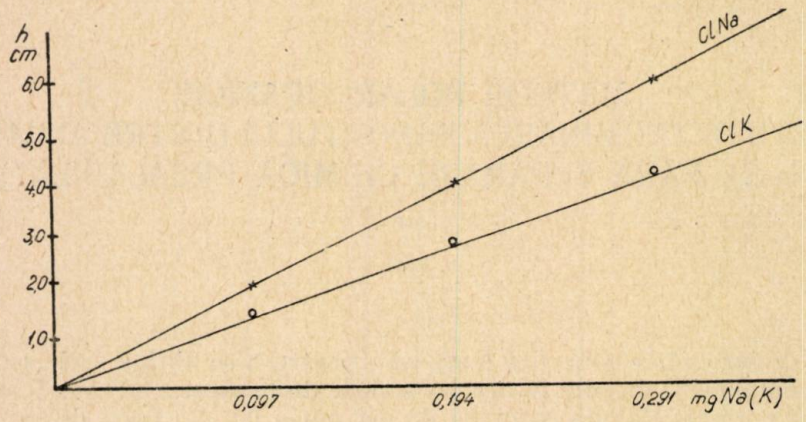


Fig. 1.— Ac.=1,3—2,7 V; S=1/200, timp de pic.= 1 sec, t=20°C

line, fără separarea lor chimică prealabilă, prin metode diferite: obișnuită, metoda *celor două puncte* și metoda derivată, în special prin înregistrarea mecanică a curbelor.

În acest scop, s-a lucrat cu o soluție etalon de ClNa și ClK p.a.10^{-2} N, în diferite condiții de lucru, pentru a se obține, pentru aceleași cantități de Na^+ și K^+, diferențe cît mai mari (respectiv erori mai mici).

Dintre factorii care pot să modifice diferența de înălțime pentru aceleași cantități de Na^+ și K^+, s-au urmărit în special:

1) concentrarea în metale alcaline,
2) timpul de picurare,
3) temperatura probei de determinat,
4) raportul alcaline/soluție de bază,
5) natura soluției de bază ($N(CH_3)_4OH$, LiOH),
6) distanța de la galvanometru la hîrtia de înregistrat.

Din figura 1 se poate observa că diferența, pentru aceleași cantități de Na^+ și K^+, se mărește cu creșterea cantităților de alcaline, respectiv, pentru aceleași cantități de alcaline, diferența se mărește cu creșterea distanței de la galvanometru la hîrtia de înregistrare.

Însă, dacă crește concentrația în alcaline, h devine mai mare decît 10 cm, înregistrarea rezultatelor se poate face pentru aceeași distanță de la galvanometru la suprafața de înregistrare prin:

a) micșorarea sensibilității (la reductor) sau

b) urmărirea fenomenului de reducere pe o riglă gradată corespunzătoare (cînd se lucrează în soluție de bază hidroxil de tetrametil-amoniu).

Dacă determinările se execută în soluție de bază LiOH, posibilitatea *b*) nu se poate aplica pentru că unda nu este bine definită (urcătoare).

În acest caz, dacă de exemplu vrem să obținem o undă corespunzătoare pentru $h \sim 20$ cm, se urmărește fanta luminoasă pe rigla milimetrică 14—15 cm și se continuă prin înregistrarea mecanică. Această variantă este un alt aspect avantajos al înregistrării mecanice față de metoda fotografică (pe lîngă economie și rapiditate).

Însă, se constată practic, că, mărind cantitatea de alcaline sau distanța de la galvanometru la suprafața de înregistrare, diferența dintre aceleași cantități de Na^+ și K^+ se mărește în detrimentul exactității. Din aceste motive se preferă să se lucreze în condițiile arătate la obținerea rezultatelor din figura 1 (adică $S = 1/100$—$1/200$, timp de pic. = 1 secundă, raportul dintre alacaline/ soluție de baza = 1/10—1/20).

I. DETERMINĂRI PRIN METODA OBIȘNUITĂ, CU ÎNREGISTRAREA MECANICĂ A UNDELOR

În tabloul nr. 1 sînt date rezultatele obținute prin metoda obișnuită cu înregistrarea mecanică a undelor.

Tabloul nr. 1

Soluțiile de ClNa și ClK = 10^{-2}N

Ac = 4,0 V; S = 1/200, timp de pic. = 1 secundă, 0,15 ml $N(CH_3)_4OH$ 10%, t = 25°C

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat: felul	volumul ml	cantitatea mg	H_2O ad ml	Volumul otal ml	Înălțimea unde cm	Diferențe *)
A. *Volumul soluției de* ClK = *volumul soluției de* ClNa									
ClNa	0,90	0,195				2,10	3,15	4,40	h } 2,75
			ClK	0,50	0,195	,,	3,65	7,15	h_1 }
			ClNa	0,50	0,108	,,	3,65	6,10	h_2 } 1,05
ClK	0,50	0,195				2,50	3,15	3,25	h' } 2,80
			ClK	0,50	0,195	,,	3,65	6,05	h'_1 }
			ClNa	0,50	0,108	,,	3,65	5,10	h'_2 } 0,95
B. *Cantitatea* K^+ = *cantitatea* Na^+									
ClNa	0,90	0,195				2,10	3,15	4,20	h } 2,30
			ClK	0,50	0,195	,,	3,65	6,50	}
			ClNa	0,90	0,195	1,70	3,65	7,55	h_2 } 1,05
ClK	0,50	0,195				2,50	3,15	3,20	h' } 2,60
			ClK	0,50	0,195	,,	3,65	5,85	h'_1 }
			ClNa	0,90	0,195	2,10	3,65	6,90	h'_2 } 1,05
C. *Cantitatea de alcaline pe jumătate și sensibilitatea determinărilor mărită de două ori* (S = 1/100)									
ClNa	0,45	0,0975				2,55	3,15	5,20	h } 3,05
			ClK	0,25	0,0975	,,	3,40	8,25	h_1 }
			ClNa	0,25	0,054	,,	3,40	7,25	h_2 } 1,00

*) Eroarea admisibilă în cazul înregistrării mecanice este ± 0,05 cm.

S-a lucrat în soluție de baza hidroxid de tetrametil-amoniu, cu volume egale și cantități egale de alcaline, prin *metoda adăugirii duble.*

Din rezultatele redate în tabloul nr. 1 se poate observa că diferența $(h_1 - h_2)$, respectiv $(h'_1 - h'_2)$, în cazul A sau $(h_2 - h_1)$, respectiv $(h'_2 - h'_1)$, în cazul B și C este constantă și egală cu 1,00 cm.

Ținînd seama de suma erorilor prin metoda de înregistrare mecanică $\pm$ 0,05→$\pm$ 0,10 cm, rezultă că se poate determina raportul alcalinelor pînă la 1/10.

Verificarea celor de mai sus se poate urmări în tabloul nr. 2.

Tabloul nr. 2

Ac = 4,0 V; S = 1/200, timp de pic. = 1 secundă, 0,15 ml $N(CH_3)_4OH$ 10 %, t = 25°C

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total m	Înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumu l ml	cantitatea mg				
ClNa	0,90	0,195				2,10	3,15	4,40	h } 2,75
			ClK	0,50	0,195	„	3,65	7,15	h_1 }
			ClNa	0,50	0,108	„	3,65	6,10	h_2 } 1,05
ClK	0,50	0,195				2,50	3,15	3,25	h' } 2,80
			ClK	0,50	0,195	„	3,65	6,05	h'_1 }
			ClNa	0,50	0,108	„	3,65	5,10	h'_2 } 0,95
50 %ClNa +	0,45	0,0975				2,30	3,15	3,75	h } 2,40
50 %ClK	0,25	0,0975							
			ClK	0,50	0,195	„	3,65	6,15	h_1 }
			ClNa	0,50	0,108	„	3,65	5,60	h_2 } 0,55
90 %ClNa +	0,81	0,1755				2,14	3,15	4,55	h } 2,85
10 %ClK	0,05	0,0195							
			ClK	0,50	0,195	„	3,65	7,40	h_1 }
			ClNa	0,50	0,108	„	3,65	6,50	h_2 } 0,90
10 %ClNa +	0,09	0,0195				2,46	3,15	3,60	h } 2,80
90 %ClK	0,45	0,1755							
			ClK	0,50	0,195	„	3,65	6,40	h_1 }
			ClNa	0,50	0,108	„	3,65	5,60	h_2 } 0,85

Din rezultatele redate în tabloul nr. 2 rezultă imediat aplicabilitatea practică care constă în combinarea celor două metode cantitative de determinare polarografică, metoda curbei etalon și metoda adaosului cu ClNa și ClK (soluții 10^{-2} N în cantități egale sau volume egale).

Practic se procedează în felul următor:

1. În prealabil, se trasează curba etalon în soluție de bază LiOH.
2. Se determină suma alcalinelor ($Na^+ + K^+$) din proba necunoscută, alegînd o concentrație convenabilă pentru a obține în condițiile date, h = 3—5 cm.
3. La proba de la punctul 2 se adaugă 0,5 ml ClK 10^{-2}N și se înregistrează polarografic (h_1).
4. Se ia o nouă probă identică cu 2 și se adaugă 0,5 ml ClNa 10^{-2}N și se înregistrează polarografic (h_2).

Din diferența (h_1—h_2) se poate deduce, printr-un calcul simplu, raportul dintre alcaline.

Exactitatea determinărilor depinzînd de mărimea diferenței (h_1—h_2) s-au căutat condițiile practice pentru a obține această diferență cît mai mare.

În tabloul nr. 3 sînt redate cîteva determinări polarografice în soluții mai concentrate și în așa fel ca după metoda adaosului h_2 = 10 cm (adică maximum).

Tabloul nr. 3

Ac = 4,0 V; S = 1/150, timp de pic. = 1 secundă, 0,15 ml $N(CH_3)_4OH$ 10 %; t = 28°C

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cantit. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total ml	înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumul ml	cantitatea mg				
ClNa	0,90	0,195				1,20	2,25	5,50	h } 2,80
			ClK	0,50	0,195	1,20	2,75	8,30	h_1 }
			ClNa	0,90	0,195	1,80	2,75	9,80	h_2 } 1,50
ClK	0,50	0,195				1,60	2,25	4,40	h' } 2,70
			ClK	0,50	0,195	1,60	2,75	7,10	h_1' }
			ClNa	0,90	0,195	1,20	2,75	8,55	h_2' } 1,50

În tabloul nr. 4 sînt redate cîteva rezultate întrebuințînd soluție de bază LiOH în loc de $N(CH_3)_4$ OH.

Tabloul nr. 4

Ac = 1,3—2,7 V; S = 1/150, timp de pic. = 1 secundă, 0,15 ml LiOH (N), t = 27,5°C

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total ml	Înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumul ml	cantitatea mg				
ClNa	0,90	0,195				1,95	3,00	4,60	h } 3,10
			ClK	0,50	0,195	,,	3,50	7,70	h_1 }
			ClNa	0,90	0,195	1,55	3,50	9,40	h_2 } 1,70
ClK	0,50	0,195				2,35	3,00	3,30	h' } 2,85
			ClK	0,50	0,195	,,	3,50	6,15	h' }
			ClNa	0,90	0,195	1,95	3,50	7,80	h_2' } 1,70

În tabloul nr. 5 sînt redate determinări la t = 60°C în ultratermostat Höppler.

Tabloul nr. 5

Ac = 4,0 V; S = 1/100, timp de pic. = 1 secundă; 0,15 ml $N(CH_3)_4$ OH 10 %, t = 60°C

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total ml	Înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumul ml	cantitatea mg				
ClK	0,25	0,0975				2,75	3,15	5,80	h' } 4,20
			ClK	0,25	0,0975	,,	3,40	10,00	h_1' }
			ClNa	0,25	0,054	,,	3,40	8,20	h_2' } 1,80

II. DETERMINĂRI PRIN METODA CELOR DOUĂ PUNCTE

Dacă se iau două puncte corespunzătoare, primul pentru începutul determinării (spira a noua), iar al doilea pentru $n = 1, 1/2, 1/4$ (n = numărul spirelor de pe tamburul polarografic, începînd de la spira a noua : Ac = =1,3—2,7 V ; corespunzător pentru 0,07—0,017 V), se poate observa că, în anumite condiții de lucru, diferența (h_2—h_1), pentru aceleași cantități de alcaline se poate mări pînă la 5,10 — 5,20 cm.

În literatură metoda *celor două puncte* este amintită numai în două lucrări [4].

Cîteva rezultate prin această metodă sînt date în tablourile nr. 6—8.

Tabloul nr. 6

Ac = 1,3—2,7 V; S = 1/150, 20 pic./7 secunde, t = 28°C ; 0,9 ml LiOH 1 %, n = 1, (primul punct = spira a noua, punctul al doilea = spira a zecea)

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total ml	Înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumul ml	cantitatea mg				
ClNa	0,90	0,195				1,20	3,00	6,00	h } 0,40
			ClK	0,50	0,195	1.20	3,50	6,40	h_1 }
			ClNa	0,90	0,195	0,80	3,50	8,40	f_2 } 2,00
ClK	0,50	0,195				1,60	3,00	4,40	h' } 1,15
			ClK	0,50	0,195	1,60	3,50	5,55	h'_1 }
			ClNa	0,90	0,195	1,20	3,50	7,50	h'_2 } 1,95

Tabloul nr. 7

Ac = 1,3—2,7 V; S = 1/30, 20 pic/25 secunde, t = 28°C, 0,1 ml LiOH 1 %, n = 1/2 (primul punct = spira a noua)

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total ml	Înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumul ml	cantitatea mg				
ClNa	0,90	0,195				2,00	3,00	3,95	h } 0,00
			ClK	0,50	0,195	2,00	3,50	3,95	h_1 }
			ClNa	0,90	0,195	1,60	3,50	5,55	h_2 } 1,60
ClK	0,50	0,195				2,40	3,00	1,90	h' } 0,50
			ClK	0,50	0,195	2,40	3,50	2,40	h'_1 }
			ClNa	0,90	0,195	2,00	3,50	4,00	h'_2 } 1,60

Tabloul nr. 8

Ac = 1,3—2,7 V; S = 1/15,20 pic./20 secunde, t = 28°C, 0,1 ml LiOH 1 %, n = 1/2 (primul punct = spira a noua)

Element alcalin inițial	Volumul soluțiilor alcaline ml	Cant. elem. alcaline mg	Element alcalin adăugat			H_2O adăugat ml	Volumul total ml	Înălțimea undei cm	Diferențe
			felul	volumul ml	cantitatea mg				
ClNa	0,90	0,195				2,00	3,00	5,60	h } —0,80
			ClK	0,50	0,195	2,00	3,50	4,80	h_1 }
			ClNa	0,90	0,195	1,60	3,50	10,00	h_2 } 5,20
ClK	0,50	0,195				2,40	3,00	2,50	h' } 0,30
			ClK	0,50	0,195	2,40	3,50	2,80	h'_1 }
			ClNa	0,90	0,195	2,00	3,50	7,90	h'_2 } 5,10

Dezavantajul metodei *celor două puncte* este marea fluctuație în jurul poziției celui de al doilea punct care poate ajunge pînă la $\pm$ 0,50 cm. Deci și în acest caz nu se poate determina practic raportul alcalinelor decît tot pînă la 1/10.

III. DETERMINAREA RAPORTULUI DINTRE ALCALINE PRIN METODA DERIVATĂ

Montajul necesar pentru metoda derivată a fost confecționat*) după V o g e l și R i h a [6].

Această metodă are la bază folosirea unui condensator în derivație, de capacitate aproximativ 2000 — 3000 μ F, iar pentru amortizarea

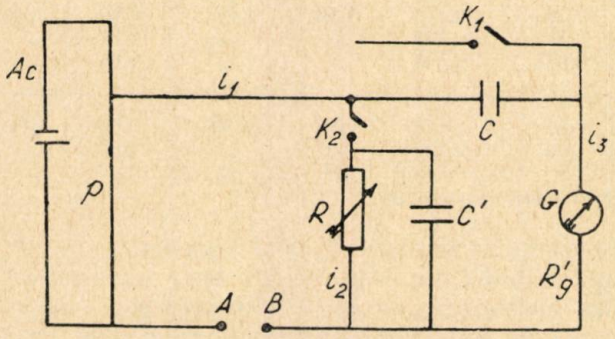


Fig. 2. — Ac. = acumulator, p = potențiometru, R = rezistență (200—800 ohmi), C = condensator în derivație (2000—3000 μF), C' = condensator (3000—5000 μF), G = galvanometru, R'_g = schuntul galvanometrului.

oscilațiilor galvanometrului se întrebuințează un condensator de 3000 — 6000 μF în paralel cu rezistența R.

Schema montajului derivat (*adaptorul*), după V o g e l și R i h a, este dată în figura 2.

Funcționarea : închizînd cheia K_1 se pot înregistra curbe polarografice obișnuite, închizînd cheia K_2 se înregistrează curbe derivate. Dacă avem două galvanometre, se pot înregistra, în același timp, curbe obișnuite și derivate.

Prin metoda derivată, s-a studiat corelația ce există între h și a (h = înălțimea undei în punctul maxim, a = adîncimea undei) pentru cantități diferite de K^+ și aceleași cantități de Na^+ condițiile optime pentru a se obține diferențe maxime pentru (h_{Na}—h_K), respectiv (a_{Na}—a_K), în soluție de bază LiOH.

Din acest punct de vedere s-au studiat următorii factori variabili :

a) temperatura probei de determinat (25 — 40°C),

b) timpul de picurare,

c) raportul alcaline/LiOH.

Determinările au fost executate prin înregistrări fotografice și mecanice, în ultratermostat Hoeppler, la temperaturi constante (25—40C°) și volum constant.

*) de către atelierul electromecanic al Academiei R.P.R., Filiala Cluj.

Cercetările efectuate prin înregistrări mecanice prezintă suficientă exactitate pentru determinarea raportului dintre alcaline pînă la 1/10.

Pentru evidențierea relației dintre h și a corespunzătoare aceleiași cantități de Na^+ și K^+, dintre determinările efectuate se redă o singură serie de determinări în tabloul nr. 9 și în figurile 3 și 4.

Tabloul nr. 9

Ac = 3,8 V; S = 1/10; H_{Hg}*) = 40 cm

Nr. crt.	Cloruri alcaline 10^{-2} N			Sol. de bază LiOH(N)		H_2O adăugat ml	Volum total ml	Caracteristici	
	Clorura alcalină	ml	mg	ml	mg Li^+			h cm	a cm
1	ClK	0,295	0,115	0,10	0,694	2,60	3,00	3,22	0,15
2	„	0,590	0,230	„	„	2,31	„	6,30	0,90
3	„	0,885	0,345	„	„	2,01	„	9,00	1,80
4	ClNa	0,50	0,115	0,10	0,694	2,40	3,00	4,45	1,20
5	„	1,00	0,230	„	„	1,90	„	8,30	3,20
6	„	1,50	0,345	„	„	1,40	„	11,70	4,85

*) H_{Hg} = înălțimea coloanei de mercur [7].

Din aceste rezultate se observă următoarele:

1) diferența minimă $h_{Na} - h_K = 1,23$ cm; $a_{Na} - a_K = 1,05$ cm, iar

2) diferența maximă $h_{Na} - h_K = 2,70$ cm; $a_{Na} - a_K = 3,05$ cm.

Ținînd seama de exactitatea determinărilor prin înregistrare mecanică care este $\pm$ 0,05 cm, înseamnă că s-ar putea determina raportul dintre alcaline pînă la 1/60. Însă practic, din cauza sumei erorilor, se poate determina raportul dintre alcaline numai pînă la 1/10—1/15.

Rezultatele din tabloul nr. 9 sînt reprezentate în figurile 3 și 4.

Rezultatele determinărilor, pentru aceleași cantități de K^+ și Na^+, în diferite condiții de lucru, pentru obținerea diferențelor maxime $h_{Na} - h_K$ și $a_{Na} - a_K$ sînt date în tabloul nr. 10.

Tabloul nr. 10

Ac = 3,8 V; S = 1/10. $K^+(Na^+)$ = 0,115—0,345 mg; volumul total de soluție = 3,00 ml

Nr. crt.	H_{Hg} cm	t °C	Soluția de bază LiOH(N) ml	Diferențele			
				minime		maxime	
				$h_{Na} - h_K$ cm	$a_{Na} - a_K$ cm	$h_{Na} - h_K$ cm	$a_{Na} - a_K$ cm
1	25	25	0,20	0,75	0,65	2,60	2,70
2	25	25	0,10	1,70	1,00	2,55	2,65
3	40	25	0,20	1,15	0,60	2,70	2,90
4	40	25	0,10	1,25	1,05	2,70	3,05
5	40	40	0,20	0,40	0,20	2,60	3,00
6	40	40	0,10	2,05	0,85	2,30	3,30
7	25	40	0,20	0,30	0,15	2,45	2,80
8	25	40	0,10	1,00	0,70	2,30	3,00

Observații. Fiecare număr de determinare (1—8) din tabloul nr. 10 reprezintă rezultatul unor serii de cel puțin 12 determinări practice.

Practic se recomandă să se lucreze în condițiile date la nr. 4 din tabloul nr. 10, adică H_{Hg} = 40 cm, t = 25°C, LiOH(N) = 0.1 ml, volum total de soluție (constant) = 3.00 ml.

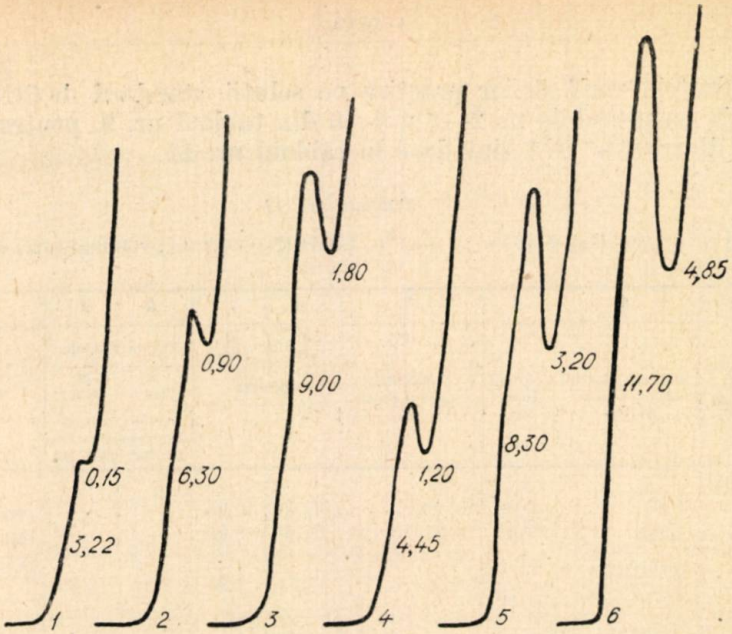


Fig. 3.— Ac.=3,8 V; S=1/10; H_{Hg}=40 cm; t=25°C, soluţie de bază LiOH

Curba *1*: 0,115 mg K^+; curba *2*: 0,23 mg K^+; curba *3*: 0,345 mg K^+; curba *4*: 0,115 mg Na^+; curba *5*: 0,23 mg Na^+; curba *6*: 0,345 mg Na^+.

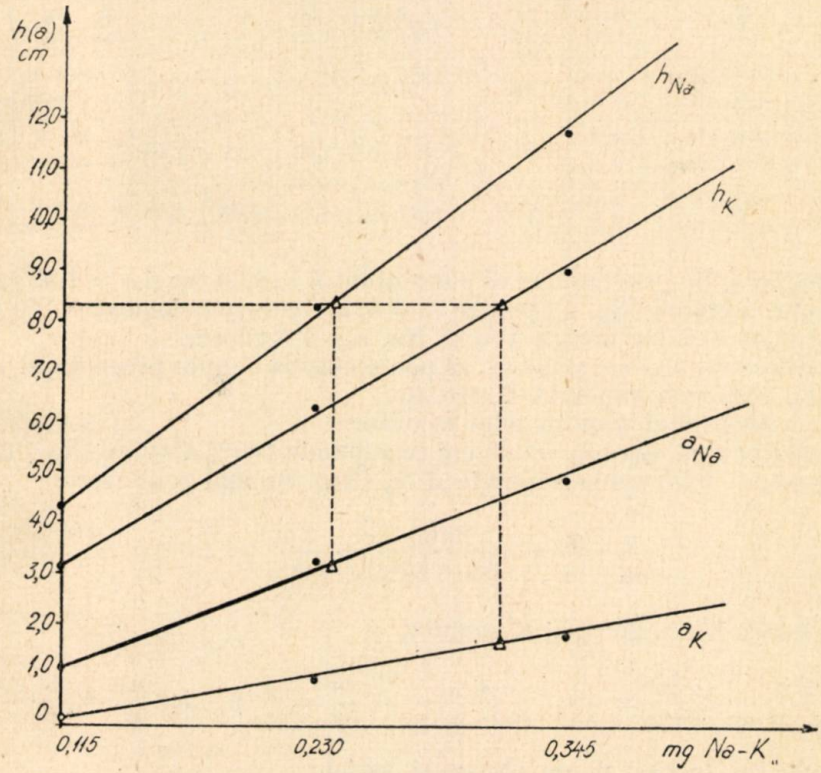


Fig. 4

Rezultatele verificărilor practice pe soluții standard de ClNa și ClK p.a. 10^{-2}N cu perechile nr. 2—5 și 3—6 din tabloul nr. 9, pentru diferite rapoarte dintre Na^+/K^+ sînt date în tabloul nr. 11.

Tabloul nr. 11

Ac = 3,8 V; S = 1/10, H_{Hg} = 40 cm; t = 25°C, LiOH (N) = 0,1 ml; volumul total de soluție = = 3,00 ml

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nr. crt.	Nr. det din tabloul nr. 9	Element alcalin sau raportul 10^{-2}N	Volumul luat ml	Cantitatea corespunzătoare ml	h' cm (obținute)	a' cm (obținute)	Pentru rap. alc. h cm (calculate după rezultatele practice 2-5 3-6 (tabl. 9))	Pentru rap. alc. a cm (calculate după rezultatele practice 2-5 3-6 (tabl. 9))	Diferențe cm
1	2	ClK	0,59	0,23(K+)	6,30	0,90	—	—	$h_{Na} - h_K = 2,00$
2	5	ClNa	1,00	0,23(Na+)	8,30	3,20	—	—	$a_{Na} - a_K = 2,30$
3		50 %ClK+ 50 %ClNa	0,295 0,50	0,23	7,20	1,95	7,30	2,05	$h - h' = 0,10$ $a - a' = 0,10$
4		90 %ClK+ 10 %ClNa	0,53 0,10	0,25	6,45	1,05	6,50	1,13	$h - h' = 0,05$ $a - a' = 0,08$
5		10 %ClK+ 90 %ClNa	0,059 0,90	0,23	8,00	2,82	8,10	2,97	$h - h' = 0,10$ $a - a' = 0,15$
6	3	ClK	0,885	0,345	9,00	1,80	—	—	$h_{Na} - h_K = 2,70$
7	6	ClNa	1,50	0,345	11,70	4,85	—	—	$h_{Na} - h_K = 3,05$
8		50 %ClK+ 50 %ClNa	0,442 0,75	0,345	10,25	3,15	10,35	3,30	$h - h' = 0,10$ $a - a' = 0,15$
9		90 %ClK+ 10 %ClNa	0,79 0,15	0,345	9,10	2,00	9,27	2,10	$h - h' = 0,17$ $a - a' = 0,10$
10		10 %ClK+ 90 %ClNa	0,088 1,35	0,345	11,30	4,35	11,43	4,50	$h - h' = 0,13$ $a - a' = 0,15$

Exemplul 1. Să presupunem că s-a obținut h = 8,30 cm și a = 1,92 cm.

Din curba etalon (fig. 4), pentru h = 8,30—corespunde pentru 100 % K — a_K = 1,60 cm, iar pentru 100 % Na, a_{Na} = 3,20 cm.

Din diferența a_{Na}—a_K și a—a_K se poate calcula simplu procentajul de Na sau K, respectiv raportul dintre ele.

Raționamentul se face în felul următor:

a) Dacă pentru a_{Na}—a_K = 1,60 cm corespunde 100 % alcaline (Na+K), pentru a—a_K = 0,32 cm corespunde X % (Na). Se mai poate scrie

$$\frac{a - a_K}{a_{Na} - a_K} = \frac{Na\,\%}{(Na + K)\,\%} = \frac{X\,\%}{100\,\%}.$$

Se găsește Na = 20 % și K = 80 %

$$\frac{Na\,\%}{(Na + K)\,\%} = \frac{20}{100} = \frac{1}{5}; \quad \frac{K\,\%}{(Na + K)\,\%} = \frac{80}{100} = \frac{4}{5}; \quad \text{iar } \frac{Na}{K} = \frac{1}{4}.$$

Rezultatul se mai poate obține și astfel:

b) Dacă pentru $a_{Na} - a_K = 1{,}60$ cm corespunde 100 % alcaline (Na+K) pentru $a_{Na} - a = 1{,}28$ cm corespunde X % (*K*).
Deci

$$\frac{a_{Na} - a}{a_{Na} - a_K} = \frac{K\,\%}{(Na + K)\,\%} = \frac{X\,\%}{100\,\%}.$$

c) Rezultatele se pot obține și din tablourile, în care se găsesc calculate (și verificate practic) valorile înălțimilor și adîncimilor undelor corespunzătoare amestecurilor de la 10% Na—90 %K la 90% Na—10%K, (din 10 în 10%).

Exemplul 2. Să presupunem că, pentru $h = 8{,}30$ cm, $a = 2{,}88$ cm. În acest caz, raportul dintre alcaline este invers: K/Na = 1/4, adică K = 20 % și Na = 80 % (respectiv Na %/(Na + K) % = 4/5, iar K %/(Na + K) % = 1/5).

Exemplul 3. Dacă pentru $h = 8{,}30$ cm, $a = 1{,}60$ cm sau $a = 3{,}20$ cm, înseamnă că proba de cercetat are 100 % K^+ sau 100 % Na^+ sau raportul dintre ele este mai mic de 1/10.

Dacă de exemplu raportul dintre alcaline $K^+/Na^+ = 1/50$, se poate proceda în felul următor:

a) Se determină suma alcalinelor.

b) Se adaugă un volum bine determinat din soluția etalon de ClK 10^{-2}N corespunzător pentru o ridicare de înălțime a undei de reducere aproximativ cu a zecea parte ($h_1 - h$) ≅ 0,83 cm.

Raportul dintre alcaline a devenit $(K_i^+ + K_a^+)/Na^+ \cong 1/10$ ($K_i^+ = K^+$ inițial, $K_a^+ = K^+$ adăugat).

Dacă de data aceasta pentru înălțimea $h_1 = 9{,}13$ cm (8,30+0,83) a_1 are valoarea cuprinsă între a_K și a_{Na}: $a_K < a_1 < a_{Na}$ (corespunzătoare pentru $h = 9{,}13$ cm de pe curba etalon), înseamnă că raportul dintre alcaline nu este mai mic de 1/10 (adică inițial, raportul dintre K/Na nu a fost mai mic de 1/50) și acest raport se poate determina.

c) La rezultatul final se ține seama de cantitatea de K^+ adăugată.

Urmează ca aceste metode să se verifice pe materiale practice (minereuri, materiale ceramice, sticle, aliaje etc).

CONCLUZII

În prezenta lucrare s-au studiat:

1) Condițiile optime pentru găsirea unei metode practice simple, rapide și economice de determinare a raportului dintre alcaline (Na^+ și K^+) fără separarea lor chimică prealabilă.

2) Determinările au fost executate fotografic și mecanic, prin metoda obișnuită, metoda *celor două puncte* și metoda derivată.

3) S-a lucrat în diferite condiții pentru a se obține pentru aceleași cantități de Na^+ și K^+, diferențe cît mai mari (respectiv erori mici).

Dintre factorii care pot să modifice diferența de înălțime, pentru aceleași cantități de Na^+ și K^+, în special s-au urmărit:

a) concentrația în metale alcaline,

b) timpul de picurare,
c) temperatura probei de determinat,
d) raportul alcaline/soluție de bază,
e) natura soluției de bază ($N(CH_3)_4$ OH, LiOH),
f) distanța de la galvanometru la hîrtia de înregistrat.

4) S-a găsit că se poate determina practic raportul dintre alcaline (prin cele 3 metode amintite mai sus) pînă la 1/10, fără separarea lor chimică prealabilă.

5) Dacă raportul dintre alcaline este mai mare decît 1/10 și ajunge pînă la 1/50, se indică procedeul practic și în acest caz, fără separarea chimică prealabilă.

6) Dintre metodele amintite, se recomandă metoda derivată pentru că în acest caz dintr-o singură determinare se poate găsi suma și raportul dintre alcaline (din corelația dintre *h* și *a*).

7) Aceste metode urmează să se verifice pe materiale practice reale (minereuri, sticle, materiale ceramice, aliaje, etc.)

Institutul de chimie al Academiei R.P.R., Filiala Cluj

Prezentat la redacție la 17 mai 1954

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ ЩЕЛОЧЕЙ (Na/K) БЕЗ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ХИМИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В случае щелочных металлов (Na, K), по причине слишком небольшой разницы потенциалов восстановления ($E_{1/2}$) Na = — 2,11 V; ($E_{1/2}$) K = — 2,13 V (разница = 0,02 V), можно полярографически определить лишь их сумму. Для определения вышеупомянутых двух компонентов определяется сначала их сумма, затем общеизвестными методами выделяется микрохимически и определяется полярографически один из компонентов, а по разнице находится второй компонент.

Согласно данным, имеющимся в литературе, явление „экзальтации" (или возрастания) миграционного тока, вследствие предшествующего разряда беззарядного вещества (1) или вследствие предшествующего разряда восстановляемого иона (2), не может иметь количественного применения в практике.

Согласно уравнению Ильковича, коэффициент диффузии прямо пропорционален подвижности ионов:

$$D = \frac{RT}{N}\,\delta\,(\delta_{k+} = 63{,}4 \text{ и } \delta_{Na+} = 45{,}3,\ t = 18°C).$$

Это значит, что при одних и тех же количествах Na^+ и K^+ получатся, в одинаковых условиях работы, различные высоты, что вызывает, с одной стороны, необходимость поправки (3), а, с другой стороны, дает возможность практически определить отношения между щелочами, без предварительного химического разделения.

1. На осиове этих разниц были исследованы оптимальные условия для нахождения практического, простого ускоренного и экономичного метода определения соотношения щелочей (Na^+ и K^+) без предварительного химического их разделения.

2. Определения производились фотографическим и механическим (особое внимание уделялось механическим определениям) путем, обычным методом, методом „двух точек" и производным методом.

3. Работа велась в различных условиях с целью получения, при одних и тех же количествах Na^+ и K^+, возможно больших разниц (другими словами, возможно меньших погрешностей).

Из факторов, могущих изменить разницу в высоте при одних и тех же количетвах Na^+ и K^+, особое внимание было уделено следующим:

а) концентрации щелочных металлов ;

б) продолжительности капания ;

в) температуре определяемой пробы ;

г) отношению щелочей (основной раствор) ;

д) характеру основного раствора ;

е) расстоянию от гальванометра до регистрирующей бумаги.

4. Было установлено, что можно практически определить отношение между щелочами (вышеупомянутыми тремя методами) до 1/10 без предварительного их химического разделения.

5. Если отношение между щелочами превосходит 2/10 и доходит до 1/50, то и для этого случая указан практический прием, позволящий обходиться без предварительного химического резделения щелочей.

6. Из всех вышеупомянутых методов предпочтение дается производному методу, так как в этом случае в результате одной лишь операции можно определить как сумму, так и соотношение щелочей (из соотношения h/a).

7. Все эти методы подлежат проверке на материалах, используемых в промышленной практике (рудах, стекле, керамических материалах, сплавах и пр.).

MÉTHODES POLAROGRAPHIQUES POUR LA DÉTERMINATION DU RAPPORT ENTRE LES MÉTAUX ALCALINS (Na/K) SANS SÉPARATION CHIMIQUE PRÉALABLE

(RÉSUMÉ)

Dans le cas des métaux alcalins (Na, K), étant donné la trop faible différence des potentiels de réduction ($E_{\frac{1}{2}}$) Na = — 2,11 V ; ($E_{\frac{1}{2}}$) K = = —2,13 V (différence = 0,02 V), on ne peut déterminer polarographiquement que leur somme. Pour déterminer les deux composants, on détermine leur somme, puis on sépare microchimiquement l'un d'eux par des méthodes connues et on le détermine polarographiquement ; par différence on obtient l'autre.

Le phénomène d' „exaltation" (ou de croissance) du courant de migration par le déchargement précédent d'une substance sans charges (1) ou le déchargement précédent d'un ion réductible (2) ne peut, d'après les données bibliographiques, avoir des applications pratiques quantitatives.

D'après l'équation d'Ilkovič, le coefficient de diffusion est directement proportionnel à la mobilité des ions :

$$D = \frac{RT}{N}\,\delta(\delta_{K^+} = 63{,}4 \text{ et } \delta_{Na^+} = 45{,}3\,;\ t = 18°C).$$

Cela signifie que, pour les mêmes quantités de Na^+ et de K^+, on obtiendra, dans les mêmes conditions de travail, des hauteurs différentes, ce qui conduit d'une part à la nécessité d'une correction (3) et d'autre part à la possibilité de déterminer pratiquement le rapport des métaux alcalins, sans séparation chimique préalable.

Se fondant sur ces différences, l'auteur a étudié :

1. Les meilleures conditions pour trouver une méthode pratique, rapide et économique de détermination du rapport des métaux alcalins (Na^+ et K^+) sans leur séparation chimique préalable.

2. Les déterminations ont été exécutées par photographie et mécaniquement (on a insisté notamment sur les enregistrements mécaniques) par la méthode ordinaire, la méthode „des deux points" et la méthode dérivée.

3. On a travaillé dans différentes conditions, afin d'obtenir pour les mêmes quantités de Na^+ et de K^+, des différences aussi grandes que possible (resp. des erreurs faibles).

Parmi les facteurs qui peuvent modifier la différence de hauteur, pour les mêmes quantités de Na^+ et de K^+, on a plus particulièrement suivi : *a*) la concentration en métaux alcalins ; *b*) la durée d'écoulement des gouttes ; *c*) la température de l'échantillon soumis à l'essai ; *d*) le rapport métaux alcalins/solution de base ; *e*) la nature de la solution de base [$N(CH_3)_4OH$, LiOH] ; *f*) la distance du galvanomètre au papier sur lequel s'inscrit l'essai.

4. Il a été trouvé que l'on pouvait déterminer pratiquement le rapport des métaux alcalins (par les trois méthodes rappelées plus haut) jusqu'à 1/10, sans leur séparation chimique préalable.

5. Si le rapport des métaux alcalins est de moins de 1/10 et atteint 1/50, on indique, dans ce cas encore, le procédé pratique sans séparation chimique préalable.

6. Parmi les méthodes mentionnées, on recommande la méthode dérivée, car dans ce cas un seul essai permet de trouver la somme et le rapport des métaux alcalins (par la corrélation entre *h* et *a*).

7. Ces méthodes seront vérifiées avec des matériaux courants (minerais, verres, produits céramiques, alliages, etc.).

BIBLIOGRAFIE

1. HEYROVSKY, M. BURES, Collection Czechoslov, Chem. Comun, **8**, 446 (1936).
2. J. J. LINGANE, I. M. KOLTHOFF, J. Am. Chem. Soc., **61**, 1045 (1939).
3. A. DUCA, Acad. R.P.R., Cluj, Studii şi cercetări ştiinţifice, *1—2*, 99—117 (1954).
4. SANDI EMIL., Magyar Kemiai Folyairat, **57**, 7 (1951).
5. JIRI RIHA, Disertachi prace. Karlova univ., 1950.
6. J. VOGEL, J. RIHA, Csl. patent prihlasen pod s.P. 112—49 ze 14, 1949.
7. C. PEROVICI, Călăuza polorografistului, 33 (1952).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

CONTRIBUŢII LA DOZAREA POLAROGRAFICĂ A VITAMINEI K_3*)

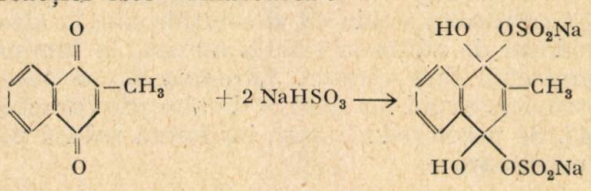
DE

L. KÉKEDY şi E. HAJDU

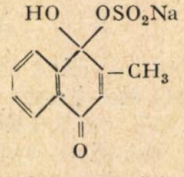
Dintre substanţele sintetice cu efect antihemoragic, cea mai activă este 2-metil-1-4-naftochinona, denumită şi vitamina K_3 [18]. Este o substanţă cristalină de culoare galbenă, avînd punctul de topire 105—106°C. Nu se dizolvă în apă, se dizolvă uşor în alcool, acetonă şi uleiuri grase.

Pentru scopuri terapeutice se întrebuinţează produşi solubili în apă ai 2-metil-1-4-naftochinonei (mai departe vitamina K_3), dintre care cel mai des şi la noi în ţară, produsul de adiţie format cu bisulfit de sodiu. Produsul de adiţie se comercializează sub formă de soluţie apoasă de 1% (injecţii de 1 ml conţinînd 0,01 g produs de adiţie) conţinînd şi un exces de bisulfit de sodiu, care serveşte drept stabilizator. Problema controlului acestui preparat este deci dozarea produsului de adiţie a vitaminei K_3 cu bisulfit de sodiu, în prezenţă de bisulfit.

Asupra mecanismului reacţiei de adiţie şi a structurii produsului rezultat, în literatură există date diferite. După S m u k şi G u s e n o v a [34] schema reacţiei este următoarea :

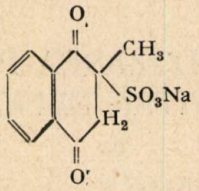


Acest produs cristalizează cu 2 molecule de apă sub forma unor plăci galbene şi este uşor solubil în apă. Soluţia este stabilă, însă sub acţiunea razelor solare şi a căldurii se descompune, colorîndu-se în roşu. P a l l a d i n [24] a obţinut un alt produs de adiţie

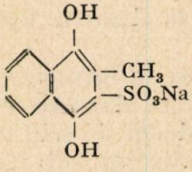


*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Academiei R.P.R., Filiala Cluj, din martie 1954.

la fel solubil în apă şi bun pentru scopuri terapeutice. După Bochvar şi Semiakin [2], adiţia are loc sau în poziţia 1, 2, sau la atomii de carbon 1,4. Carmack, Moore şi Balis [5] stabilesc că în decursul adiţiei se pot forma două serii de izomeri, dintre care unul este foarte activ, iar celălalt are o activitate fiziologică mai redusă. Pe bază de cercetări spectroscopice şi de sinteză de model, aceşti autori atribuie produsului de adiţie cu o mare activitate fiziologică formula următoare :



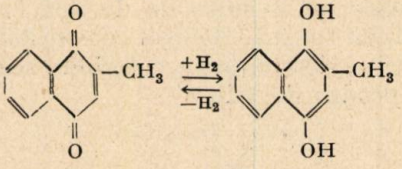
şi descriu substanţa sub forma unor cristale incolore. Produsul de adiţie, cu activitate fiziologică redusă, se prezintă sub forma unor plăci galbene avînd compoziţia următoare :



Asupra condiţiilor în care autorii susnumiţi efectuează reacţia de adiţie nu am găsit date detaliate în literatura accesibilă.

La noi în ţară, produsul de adiţie se prepară prin reacţionarea unui mol de vitamină K_3 cu 2 moli $NaHSO_3$ 10%.

Pentru evidenţierea vitaminei K_3 există multe reacţii de culoare pe care se bazează şi dozarea ei pe cale colorimetrică [1], [6], [8], [9], [11], [15], [17], [20], [21], [22], [26], [29], [33]. Experienţele noastre au arătat că atît substanţa solidă cît şi soluţiile sale în alcool, cloroform, benzen, sau produsul de adiţie în soluţia apoasă, în lumina ultravioletă, prezintă o fluorescenţă slab verzuie. Vitamina K_3 se poate identifica şi pe cale spectroscopică, avînd un spectru de absorţie caracteristic în ultraviolet [13], [14]. Se poate reduce uşor, iar forma redusă poate fi oxidată după schema următoare :



Potenţialul normal al sistemului redox este $E_0 = +0{,}5$ V. Pe această proprietate se bazează metodele de dozare oxidimetrice : titanometrice [26], cerimetrice [4], [30], [32], cu 2,6-diclorfenol-indofenol [3], [35] şi cele iodometrice [12], [36]. Metodele volumetrice dau rezultate bune în cazul dozării vitaminei K_3 libere, dar sînt complicate şi necesită reactivi mai rari şi scumpi. Nu dau însă rezultate bune în cazul dozării produsului

de adiție, căci în acest caz este nevoie de separarea prealabilă a vitaminei K_3 din produsul de adiție, ceea ce nu decurge cantitativ. Metodele colorimetrice pe lîngă inconvenientele amintite necesită și aparatură specială (fotocolorimetru, sursă de lumină ultravioletă, filtre speciale etc.).

Substanțele organice avînd în moleculă funcțiunea carbonilică sînt ușor reduse pe electroda picurătoare de mercur, astfel și vitamina K_3, deci se pot doza și polarografic. După datele din literatură [7], [16], [23], [25], vitamina K_3 în soluții tampon dă o undă bine definită, potențialul de semiundă variind după pH-ul soluției, așa cum se vede din datele tabloului nr. 1.

Tabloul nr. 1

Variația potențialului de semiundă a vitaminei K_3 în funcție de pH-ul soluției.

pH	$E_{1/2}$ V
2,3	−0,02
4,3	−0,14
6,3	−0,26
8,6	−0,39
12,0	−0,51

Avînd în vedere dificultățile izolării vitaminei K_3 din produsul de adiție cu bisulfit cît și solubilitatea redusă a acesteia în apă, noi ne-am propus studiul comportării polarografice însăși a produsului de adiție în condițiile cum se fiolează la noi în țară, adică în soluție apoasă, în prezența unui exces de bisulfit de sodiu.

În mediu neutru sau bazic ionul bisulfit nu se reduce pe electroda picurătoare de mercur, în soluții acide însă dă o undă bine definită la −0,2 volți, datorit reducerii acidului sulfuros [19]. După experiențele noastre, în absența oxigenului bisulfitul la un pH > 6,5 nu dă nici o undă (cu sensibilitate $S = 1/30$) dacă concentrația lui nu este mai mare de 10^{-3} mol/l. Cu cît pH-ul este mai ridicat limita concentrației la care încă nu apare unda bisulfitului este și ea din ce în ce mai mare. La prepararea produsului de adiție se întrebuințează doi moli de bisulfit +10% la un mol de vitamină K_3, iar o fiolă de 1 ml conține 5 mg de vitamină K_3, concentrația maximă a bisulfitului în fiolă este de 6,4. 10^{-5} M, nesocotind cantitatea de bisulfit care a intrat în reacție.

Astfel, concentrația excesului de bisulfit fiind mult sub 10^{-3} M am încercat polarografarea conținutului unei fiole diluînd-o la 50 ml cu o soluție tampon de fosfat — acid citric de pH- = 7, după Mc Ilvaine. Pentru asigurarea unei concentrații suficiente în electrolit tamponul a conținut și ClK în concentrație de 1 N. În absența oxigenului astfel am obținut două unde, prima prezentînd un maxim accentuat. Maxima dispare prin adăugarea de gelatină. În aceste condiții se pot obține două unde foarte distincte și bine formate, care corespund reducerii treptate a produsului de adiție a vitaminei K_3 cu bisulfit de sodiu pe electroda picurătoare de mercur. Dacă concentrația excesului de bisulfit este mai mare de 10^{-3} M, la pH = 7 se obțin trei unde (fig. 1) prima corespunzînd reducerii bisulfitului.

Examinînd comportarea polarografică a produsului de adiție în prezența unui exces mic de bisulfit (mai mic de 10^{-3}M) între pH = 2—10,5 în tamponul amintit respectiv în acid citric (pH = 2) sau în fosfat disodic (pH > 9,5), am constatat că la pH foarte scăzut (pH = 2,5—5) unda bisulfitului este foarte mare, iar unda produsului de adiție apare deformată. Alcalinizînd treptat soluția — între pH = 5 și 7 — unda bisulfitului se micșorează, apoi la pH = 6,9 dispare, iar unda produsului de adiție devine din ce în ce mai clară (fig. 2).

Alcalinizînd mai departe soluția, unda produsului de adiție descrește treptat și soluția se colorează în roz, iar la pH > 8 apare o altă undă,

la circa — 0,4 V, care pe baza tabloului nr. 1 corespunde undei de reducere a vitaminei K_3 libere (fig. 3).

Rezultatele confirmă datele din literatură, conform cărora în mediu alcalin produsul de adiţie se descompune şi se formează chinonă liberă şi totodată soluţia se colorează. Rezultă deci că pentru dozarea produsului

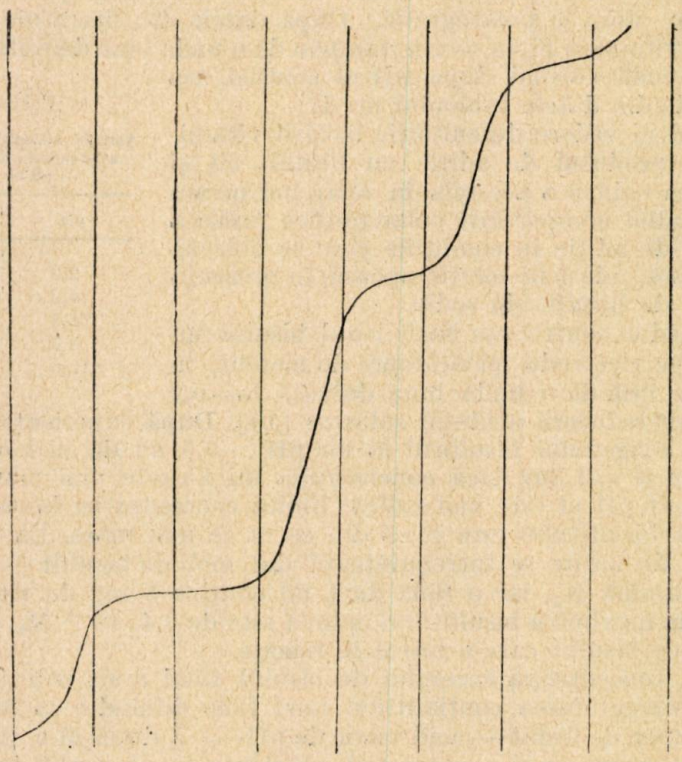


Fig. 1. — Polarograma unei soluţii de produs de adiţie a vitaminei K_3 cu bisulfit de sodiu la pH = 7, în prezenţa unui exces mare de bisulfit.

de adiţie pH-ul optim este între 6,5—7,5, în acest interval undele sînt bine formate şi excesul de bisulfit în limita stabilită nu jenează. Mai departe noi am lucrat la pH = 7.

Pentru studiul cantitativ al procesului de electrodă am preparat o soluţie standard conţinînd 500 γ vitamina K_3/ml sub formă de produs de adiţie cu bisulfit. Produsul de adiţie l-am preparat din vitamina K_3, recristalizată de mai multe ori din alcool metilic, avînd punctul de topire cel din literatură. Produsul de adiţie l-am dizolvat în apă, apoi am completat pînă la semn într-un balon jojat. Din această soluţie standard prin diluare cu soluţia de bază, am preparat soluţii etalon cu conţinut variabil în vitamină K_3. Soluţia de bază la 1000 ml conţine : ClK 74,55 g, acid citric 3,70 g, PO_4HNa_2 58,99 g. La prepararea soluţiilor etalon înainte de completare pînă la semn, am adăugat şi o soluţie de gelatină, astfel ca, concentraţia soluţiei finale în gelatină să fie 0,25‰.

Fig. 2. — Undele produsului de adiție a vitaminei K_3 cu bisulfit între pH=2—7. Vitamina K_3 0,0001 g/ml. Acc.=3,8V. $S = 1/30$. *a*) pH = 2,0 ; *b*) pH = 2,9 ; *c*) pH = 4,8 ; *d*) pH = 5,3 ; *e*) pH = 5,8 ; *f*) pH = 7,0.

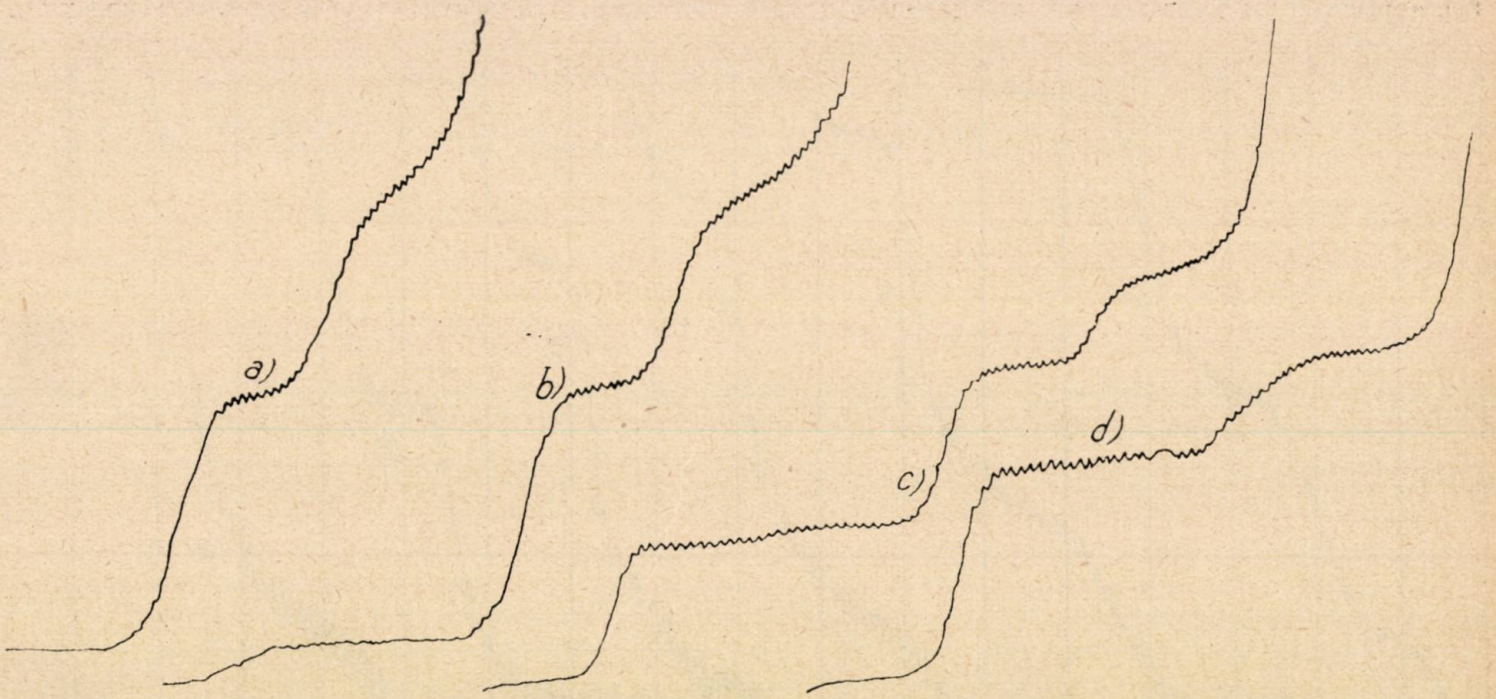


Fig. 3. — Undele produsului de adiție a vitaminei K_3 cu bisulfit între pH = 7,8—10,5. Vitamina K_3 0,0001 g/ml. Acc. = 3,8V, $S = 1/30$. *a*) pH = 7,8 ; *b*) pH = 8,5 ; *c*) pH = 9,8 ; *d*) pH = 10,5.

Polarografiind o soluție astfel preparată cu un conținut în vitamina K_3 de 0,0001 g/ml, relația între tensiunea și intensitatea curentului este redată în tabloul nr. 2. Datele din tabloul nr. 2 sînt reprezentate în figura 4.

Tabloul nr. 2

Relația între tensiunea electrodei picurătoare (E volți) și intensitatea curentului (i μA). 0,0001 g vitamina K_3/ml în soluția tampon pH = 7

E V	i μA	E V	i μA
0,40	1,46	1,25	6,96
0,50	1,52	1,30	7,65
0,60	1,52	1,32	8,15
0,70	1,54	1,34	8,71
0,80	1,63	1,36	9,21
0,90	1,98	1.38	9,65
0,93	2,50	1,40	10,00
0,95	3,16	1,45	10,46
0,98	4,09	1,50	10,64
1,00	4,68	1,55	10,76
1,05	5,85	1,60	10,93
1,10	6,37	1,65	11,40
1,15	6,66	1,70	12,52
1,20	6,80	1,75	15,09

Ecuația fundamentală a undelor polarografice a fost dedusă de Heyrovsky și Ilkovič [10] și [19], [27], conform căreia în orice punct al undei între curent și tensiune există următoarea relație:

$$E = E_{1/2} - \frac{0{,}059}{n} \log \frac{i}{i_d - i}$$

unde E este potențialul electrodei picurătoare; $E_{1/2}$, potențialul de semiundă; i, intensitatea curentului; i_d, intensitatea curentului de difu-

Tabloul nr. 3

Valabilitatea ecuației Heyrovsky – Ilkovič

E V	i μA	$i_{cor.}$ μA	$\log \frac{}{i_d - i}$	Observații
		Unda I		
0,90	1,98	0,38	−1,065	Curentul rezidual 1,60 μA
0,93	2,50	0,90	−0,636	i_d = 6,40 − 1,60 = 4,80 μA
0,95	3,16	1,56	−0,317	
0,98	4,09	2,49	0,032	
1,00	4,68	3,08	0,253	
1,05	5,85	4,25	0,829	
		Unda II		
1,30	7,65	0,65	−0,626	Curentul rezidual 7,0 μA
1,32	8,15	1,15	−0,291	i_d = 10,40 − 7,0 = 3,40 μA
1,34	8,71	1,71	0,005	
1,36	9,21	2,21	0,268	
1,38	9,65	2,65	0,548	
1,40	10,00	3,00	0,875	

ziune; n, numărul electronilor care participă la reacţia de electrodă.

Reprezentînd $\log \frac{i}{i_d - i}$ în funcţie de E se obţine o dreaptă al cărei coeficient unghiular este egal cu $0{,}059/n$, în cazul cînd reacţia de electrodă este reversibilă ($\alpha = 1$).

Potenţialul la care termenul logaritmic devine zero este potenţialul de semiundă. Efectuînd calculele respective am obţinut datele din tabloul nr. 3. Reprezentînd grafic valorile din tabloul nr. 3, se obţine figura 5.

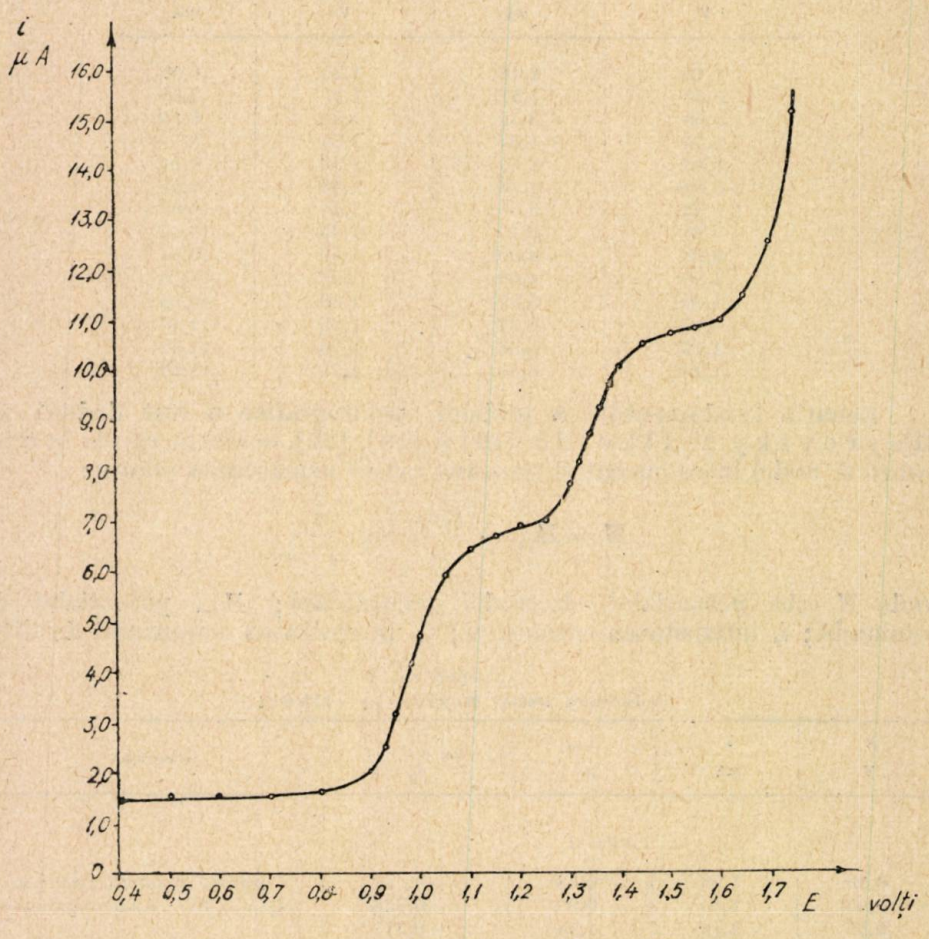


Fig. 4. — Relaţia între potenţialul electrodei picurătoare şi intensitatea curentului.

După cum se vede din figura 5 punctele se aşază pe o linie dreaptă prima undă avînd potenţialul de semiundă $E_{1/2} = -0{,}98$ V, iar al doilea $E_{1/2} = -1{,}34$ V. Potenţialul anodic faţă de electroda de calomel 0,1 N a fost — 0,108 V, deci potenţialele de semiundă faţă de electroda saturată de calomel sînt : — 0,99, respectiv — 1,35 V.

Coeficientul unghiular al dreptelor este : — 0,074, respectiv — 0,070. Deoarece această valoare este egală cu $-0{,}059/\alpha\, n$, urmează că pentru reacţia noastră $n = 1$ şi $\alpha = 0{,}8$. Putem deci afirma că în reacţia de

electrodă ia parte cîte un singur electron, iar avînd în vedere că în general reducerea chinonelor pe electroda picurătoare de mercur are loc în mod perfect reversibil ($\alpha = 1$), putem presupune că în experiențele noastre devierea lui α de la unitate se datorește erorilor determinării, astfel și reacția de electrodă în cazul substanței noastre este reversibilă.

Faptul că înălțimea celor două unde nu este egală se poate explica presupunînd că, coeficientul de difuziune a semichinonei este mai mică decît al chinonei.

Pentru studiul relației între concentrație și intensitatea curentului de difuziune am preparat o serie de soluții după metoda indicată avînd

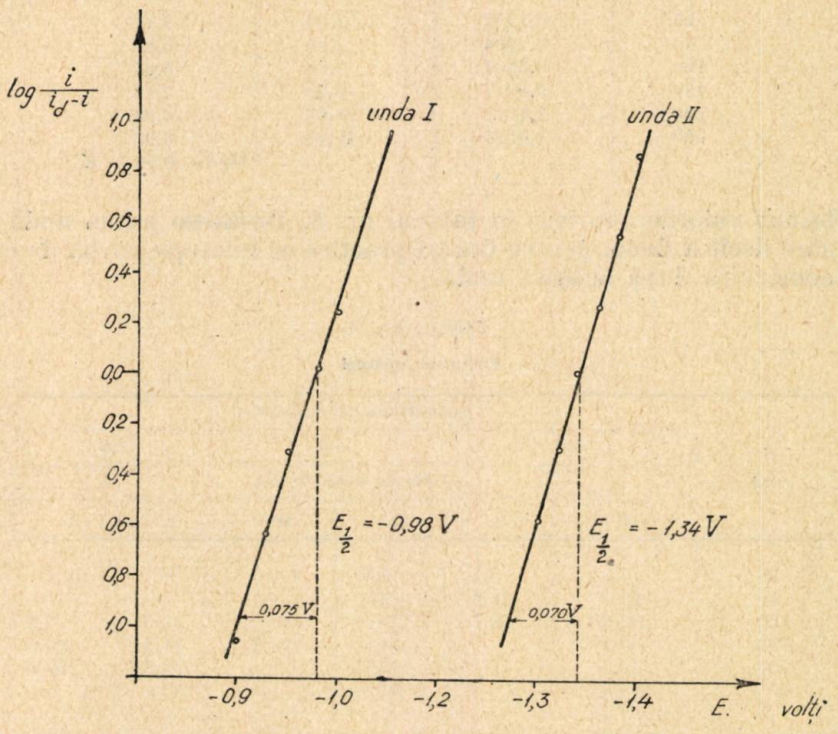


Fig. 5. — Log $\frac{i}{i_d - i}$ în funcție de E.

un conținut de vitamină K_3 între 25 și 250 γ/ml. Rezultatele determinărilor sînt date în tabloul nr. 4.

Datele din tabloul nr. 4 sînt reprezentate în fig. 6.

Deci, în domeniul concentrațiilor studiate, curentul de difuziune este proporțional cu concentrația, după relația

$$i_d = 6{,}98.C$$

și în consecință procesul de electrodă este aplicabil la dozarea cantitativă a vitaminei K_3 sub formă de produs de adiție cu bisulfit de sodiu, pe baza unei curbe de etalonare.

Procedînd la etalonarea capilarei, după metoda fotografică obişnuită, la diferite sensibilităţi ale galvanometrului pentru curentul de difuziune

Tabloul nr. 4

Relaţia între concentraţie şi curentul de difuziune

$m = 2{,}5$ mg s^{-1}; $t = 4{,}6$ s^{-1}; $m^{2/3} \cdot t^{1/6} = 2{,}374$;
Temp. = 26°C; i_d determinat la $E = 1{,}2$ V.

Conc. în vit. K_3		i_d	$K = i_d/C$
γ/ml	milimol/l	μA	
25	0,1452	1,04	7,17
50	0,2904	2,00	6,88
100	0,5807	3,96	6,82
150	0,8712	6,22	7,14
200	1,1614	8,06	6,94
250	1,4520	10,10	6,95
			Media 6,98 = K

am obţinut valorile cuprinse în tabloul nr. 5. Deoarece prima undă este mai mare decît a doua, pentru dozări practice se foloseşte curba de etalonare construită după această undă.

Tabloul nr. 5

Etalonarea capilarei

C γ/ml	Sensibilitatea galvanometrului					
	1/30		1/40		1/50	
	Înălţimea undelor în mm					
	I.	II.	I.	II.	I.	II.
25	7,9	5,8	6,0	4,6	—	—
50	16,6	11,5	12,6	8,8	—	—
100	32,8	25,0	25,0	19,0	20,0	15,4
150	50,5	—	38,0	29,3	31,2	24,6
200	66,0	—	49,8	—	39,6	30,0
250	84,5	—	65,0	—	52,0	—

Curba de etalonare construită pe baza tabloului nr. 5 este redată în figura 7, iar cîteva polarograme în figura 8.

Pentru a accelera cît mai mult determinările practice, am încercat etalonarea capilarei după aşa-zisa *metoda celor două puncte* [28]. La unele unde polarografice distanţa între două puncte caracteristice de pe undă este proporţională cu concentraţia. În asemenea cazuri, în loc să se înregistreze întreaga curbă, se înregistrează numai cele două puncte în modul următor. Se închide fanta tamburului polarografic şi se aşează cursorul potenţiometrului la potenţialul corespunzător primului punct, apoi după oprirea spotului luminos se deschide fanta tamburului expunînd hîrtia fotografică pentru 2—3 secunde şi se închide fanta din nou. Apoi se mişcă cu mîna tamburul potenţiometric la poziţia dorită şi se aşază cursorul la potenţialul corespunzător celui de al doilea punct. Se expune din nou hîrtia fotografică ca mai înainte. Distanţa între cele două puncte de pe polarogramă se reprezintă în funcţie de concentraţia soluţiei. În cazul

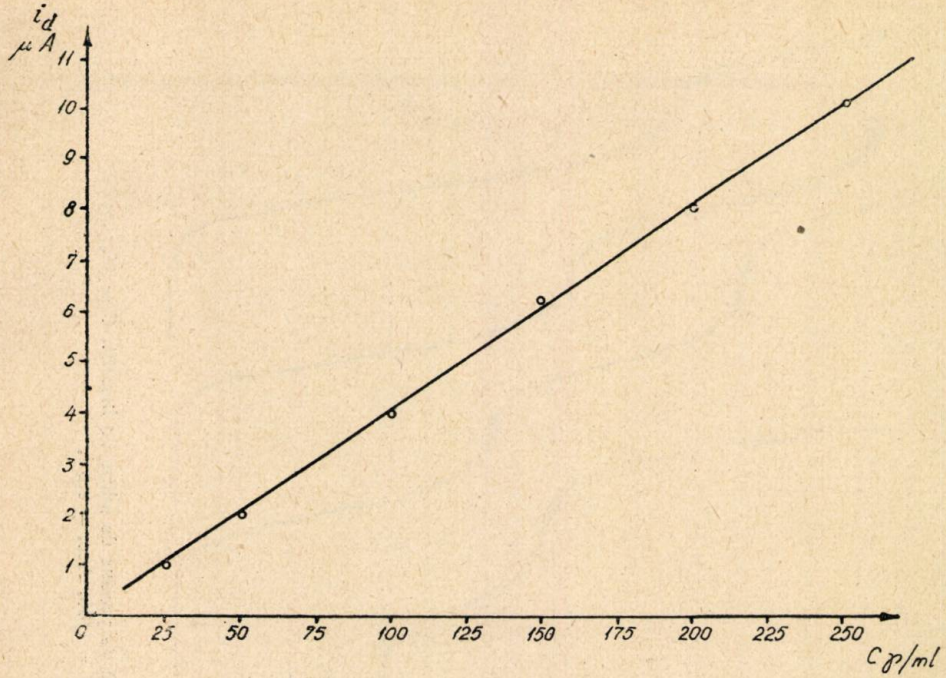


Fig. 6. — Relaţia între concentraţie şi curentul de difuziune.

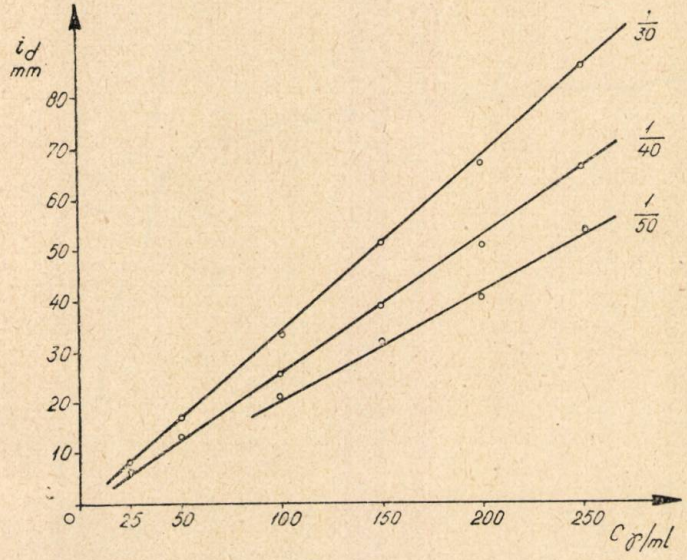


Fig. 7. — Curba de etalonare a capilarei.

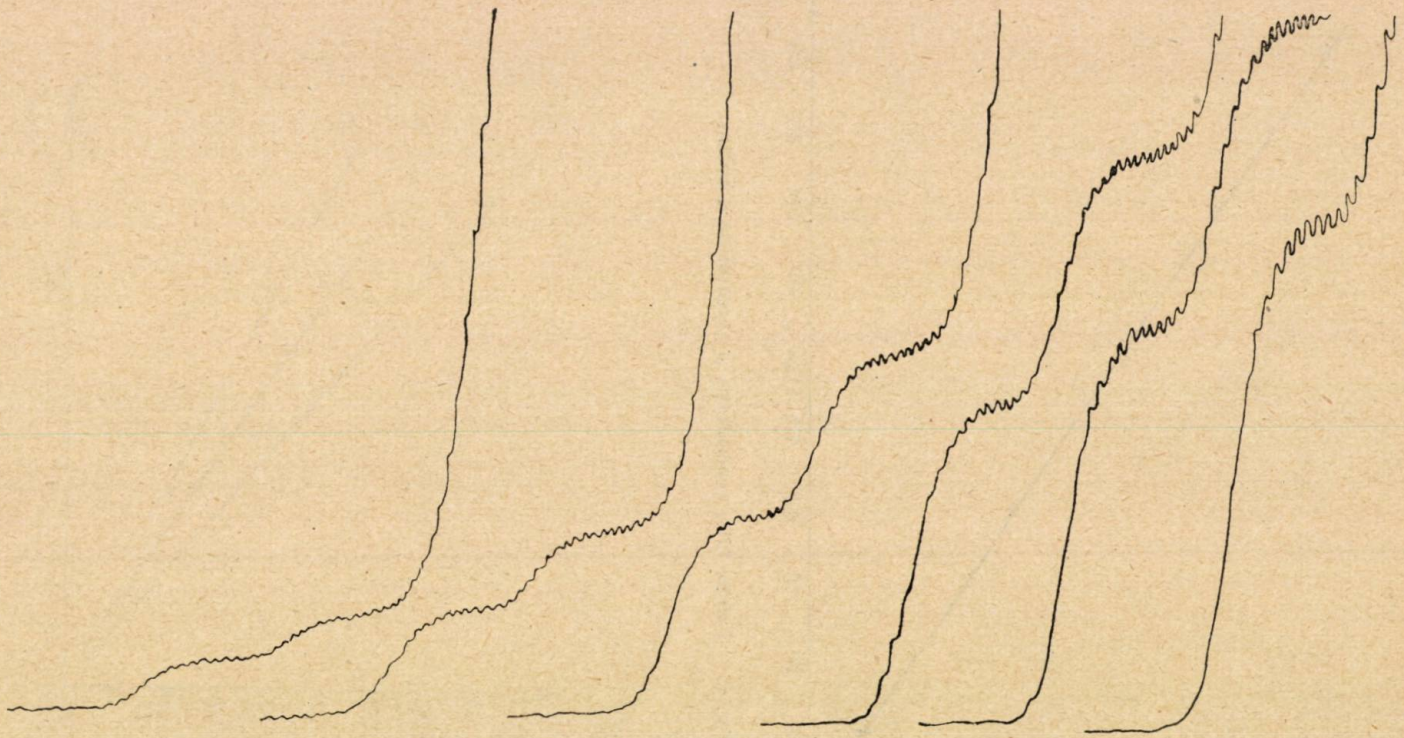


Fig. 8. — Polarógramele vitaminei K_3 sub formă de produs de adiție cu bisulfit. C = 25, 50, 100, 150, 200, 250 γ/ml $\cdot S$ = 1/30. Acc. = 3,8V.

de față noi am ales punctele care corespund potențialului — 0,80, respectiv — 1,20 V (aplicînd 3, 8 V la potențiometru, începutul spirei 4, respectiv 6). Rezultatele determinărilor se pot vedea în figura 9, iar curba de etalonare astfel obținută în figura 10.

Metoda celor două puncte se poate folosi deci și în cazul nostru, care este un mare avantaj, căci determinarea propriu-zisă după această

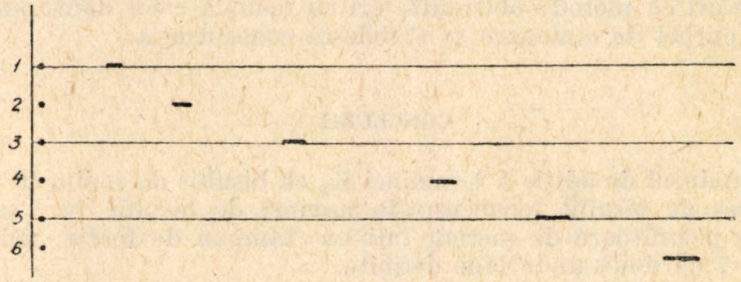


Fig. 9. — Polarograme construite după metoda celor două puncte C (1—6) = 25, 50, 100, 150, 200, 250 γ/ml. S = 1/30.

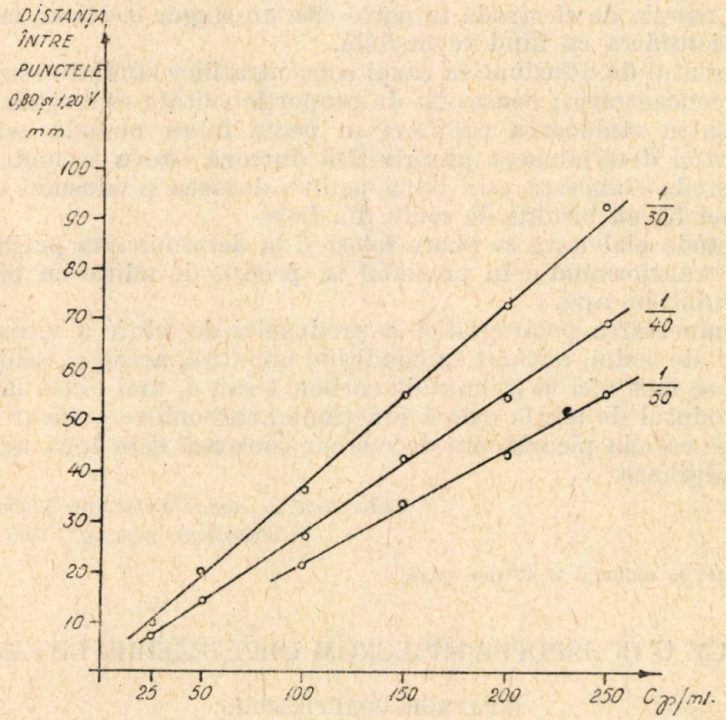


Fig. 10. — Curba de etalonare a capilarei după metoda celor două puncte.

metodă durează doar cîteva secunde, iar pe o hîrtie sensibilă se pot înregistra chiar și 50—60 de determinări.

Pe baza celor expuse mai sus dozarea polarografică a vitaminei K_3 sub formă de produs de adiție cu bisulfit de sodiu din fiole se execută în

felul următor. Se scoate 1 ml soluţie din fiolă cu o micropipetă într-un balon jojat de 50 ml, se adaugă o soluţie de gelatină încît concentraţia finală a soluţiei în gelatină să fie 0,25 $^0/_{00}$, apoi se completează pînă la semn cu soluţia de bază. După amestecare o oarecare cantitate se toarnă în vasul de polarografiat şi după eliminarea oxigenului cu un curent de hidrogen, timp de 5 minute, se determină intensitatea curentului de difuziune ori cu metoda obişnuită, ori cu metoda celor două puncte. Cu ajutorul curbei de etalonare se stabileşte concentraţia.

CONCLUZII

1. Produsul de adiţie a vitaminei K_3 cu bisulfit de sodiu, în prezenţa unui exces de bisulfit (concentraţia maximă de bisulfit 10^{-3} mol/l), pe electroda picurătoare de mercur într-un tampon de fosfat - acid citric la pH = 7 dă două unde bine definite.

2. Undele satisfac ecuaţia Heyrovsky - Ilkovič, potenţialele de semiundă faţă de electroda saturată de calomel sînt $E_{1/2} = -0{,}99$, respectiv $E_{1/2} = -1{,}35$ V.

3. În reacţia de electrodă ia parte cîte un singur electron, iar reacţia o putem considera ca fiind reversibilă.

4. Curentul de difuziune în cazul concentraţiilor studiate este proporţional cu concentraţia; constanta de proporţionalitate este egală cu 6,98.

5. Pentru etalonarea capilarei se poate folosi metoda celor două puncte, astfel determinarea propriu-zisă durează cîteva secunde.

6. Metoda elaborată este bună pentru dozarea produsului de adiţie a vitaminei K_3 cu bisulfit de sodiu din fiole.

7. Metoda elaborată se poate folosi şi la determinarea purităţii vitaminei K_3 transformînd-o în prealabil în produs de adiţie cu bisulfit de sodiu, solubil în apă.

8. Comportarea polarografică a produsului de adiţie a vitaminei K_3 cu bisulfit de sodiu, obţinut în condiţiile amintite, arată că adiţia bisulfitului nu se face nici la atomul de carbon 1 sau 4, mai puţin la ambele, căci în produsul de adiţie există funcţiunile carbonilice a căror reducere treptată pe catoda picurătoare de mercur cauzează cele două unde polarografice obţinute.

Laboratorul de chimie anorganică şi analitică,
Universitatea „Bolyai", Cluj

Prezentat la redacţie la 17 mai 1954

К ВОПРОСУ О ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ВИТАМИНА K_3

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В буферном растворе фосфат—лимонная кислота, при pH 7, продукт присоединения витамиина K_3 с бисульфитом натрия дает две определенные волны, на которые не влияет присутствие бисульфита натрия, если концентрация последнего меньше 10^{-3} мол/л. В области концентраций 25—250 γ витамина K_3/мл, высота волн пропорциональна концентрации. Из уравнения Гейровского-Ильковица можно было вывести потенциалы

полуволн: $E^1/_2 = -0{,}99$, соответственно $E^1/_2 = -1{,}35$ V по отношению к насыщенному каломелью электроду. Также можно было установить, что в электродной реакции участвует по одному электрону, а реакция может рассматриваться как обратимая. Витамин K_3 может определяться полярографически в виде продукта присоединения, образовавшегося при участии бисульфита натрия; метод может быть использован при количественном определении продукта присоединения в ампулах, а также для контроля чистоты витамина K_3, если он предварительно превращается в растворимый в воде продукт присоединения с бисульфитом.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Полярограмма раствора продукта присоединения витамина K_3 с бисульфитом натрия при pH 7, в присутствии большого избытка бисульфита.

Рис. 2. — Волны продукта присоединения витамина K_3 с бисульфитом при pH 2—7. Витамин K_3 0,0001 г/мл. Уск. — 3,8 V; S — 1/30. *a*) pH=2.0; *b*) pH=2,9; *c*) pH=4,8; *d*) pH=5,3; *e*) pH=5,8; *f*) pH=7,0.

Рис. 3. — Волны продукта присоединения витамина K_3 с бисульфитом при pH 7,8—10,5. Витамин K_3 0,0001 г/мл. Уск.—3,8 V; S—1/30. *a*) pH=7,8; *b*) pH=8,5; *c*) pH=9,8; *d*) pH=10,5.

Рис. 4. — Зависимость между напряжением капельного электрода и силой тока.

Рис. 5. $\log \frac{i}{i_d - i}$ в зависимости от E.

Рис. 6. — Зависимость между концентрацией и током диффузии.

Рис. 7. — Кривая эталонирования капилляра.

Рис. 8. — Полярограммы витамина K_3 в виде продукта присоединения с бисульфитом. C — 25,50; 100; 150; 200; 250 γ/мл. S—1/30. Уск.—3,8 V.

Рис. 9. — Полярограммы, построенные по методу двух точек. C (1—6) — 25,50; 100; 150; 200; 350 γ/мл. S—1/30.

Рис. 10. — Кривая эталонирования капилляра по методу двух точек.

CONTRIBUTION AU DOSAGE POLAROGRAPHIQUE DE LA VITAMINE K_3

(RÉSUMÉ)

En solution-tampon phosphate-acide citrique, à un pH = 7, le produit d'addition de la vitamine K_3 avec le bisulfite de sodium donne deux ondes bien définies, que la présence du bisulfite de sodium ne gêne pas si la concentration de ce dernier est de moins de 10^{-3} mol/l. Dans le domaine des concentrations de 25—250 γ de vitamine K_3/ml, la hauteur des ondes est proportionelle à la concentration. L'équation d'Heyrovsky-Ilkovič a permis d'établir les potentiels des demi-ondes, qui sont $E_{1/2} = -0{,}99$, respectivement $E_{1/2} = -1{,}35$ V, par rapport à l'électrode saturée de calomel. Les auteurs ont pu établir de même que, dans la réaction d'électrode, ne prend part chaque fois qu'un seul électron et que la réaction peut être considerée comme réversible. La vitamine K_3 peut être dosée polarographiquement sous la forme d'un produit d'addition formé avec le bisulfite de sodium et la méthode peut être utilisée pour le dosage du produit d'addition contenu dans des fioles ainsi que pour le contrôle de la pureté de la vitamine K_3, si on la transforme préalablement en produit d'addition avec le bisulfite, soluble dans l'eau.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Polarogramme d'une solution de produit d'addition de vitamine K_3 et de bisulfite de sodium à un pH = 7, en présence d'un grand excès de bisulfite.

Fig. 2. — Ondes du produit d'addition de la vitamine K_3 avec le bisulfite entre les pH = = 2—7. Vitamine K_3 0,0001 g/ml. Acc. = 3,8V. S = 11/30. *a*) pH = 2,0 ; *b*) pH = 2,9 ; *c*) pH = 4,8 ; *d*) pH = 5,3 ; *e*) pH = 5,8 ; *f*) pH = 7,0.

Fig. 3. — Ondes du produit d'addition de la vitamine K_3 avec le bisulfite, entre les pH = 7,8 — 10,5. Vitamine K_3 0,0001 g/ml. Acc. = 3,8 V. S = 1/30. *a*) pH = 7,8 ; *b*) pH = 8,5 ; *c*) pH = 9,8 ; *d*) pH = 10,5.

Fig. 4. — Relation entre le potentiel de l'électrode à gouttes et l'intensité du courant.

Fig. 5. — $\text{Log} \dfrac{i}{i_d - i}$ en fonction de E.

Fig. 6. — Relation entre la concentration et le courant de diffusion.

Fig. 7. — Courbe de l'étalonnage du capillaire.

Fig. 8. — Polarogramme de la vitamine K_3 sous forme de produit d'addition au bisulfite. C = 25, 50, 100, 150, 200, 250 γ/ml. S = 1,30. Acc. = 3,8 V.

Fig. 9. — Polarogrammes construits d'après la méthode des deux points $C(1-6)$ = = 25, 50, 100, 150, 200, 250 γ/ml. S = 1/30.

Fig. 10. — Courbe d'étalonnage du capillaire d'après la méthode des deux points.

BIBLIOGRAFIE

1. ALMOIST, J. Amer. Chem. Soc., **61**, 1610 (1939).
2. BOCHVAR, SEMIAKIN, Journ. Ob. Him., **16**, 2033 (1946).
3. BOSECKE, LAVES, Biochem. Z., **314**, 285 (1943).
4. BRUMBERG E. M., J. Analit. Himii, **5**, 195 (1950) ; Magy. Kém. Foly., **5**, 150 (1951).
5. CARMACK, MOORE, BALIS, J. Amer. Chem. Soc., **72**, 844 (1950).
6. CRAVEN, J. Biol. Chem., iunie 1944.
7. CATTANEO, SARTORI, Arch. Sci. biol., **27**, 361 (1941) ; Gazz. Chim. Ital., **72**, 38, 351 (1942) ; C., **I**, 2637 (1942) ; C., **II**, 2468 (1942).
8. DAM, Helv. Chim. Acta, **22**, 310 (1939).
9. FREIHOLZ, J. Amer. Chem. Soc., **61**, 1923 (1939).
10. HEYROVSKY, ILKOVIČ, Collection, **7**, 198 (1935).
11. IRREVERRE, SULLIVAN, Science, **93**, 358 (1941).
12. JAROUSSE, WIELAND, Am. J. Pharm., **3**, 128 (1945).
13. „ *, J. biol. Chem., **130**, 345 (1939).
14. „ *, J. Chem. Soc., 325 (1935).
15. KNOBLOCH E., Collection, **14**, 508 (1949).
16. KARRER P., Helv., Chim. acta, **22**, 1146 (1939).
17. KOESTVELD E. E., Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, **69**, 1217 (1950).
18. KOLLER FRITZ, *Das Vitamin K und seine klinische Bedeutung.* Ed. Georg Thieme, Leipzig, 1941.
19. KOLTHOFF I. M., LINGANE J. J., *Polarografia.* Goshimizdat, Moscova, 1941, 303.
20. KULBERG, IVANOVA, Biohimia, **10**, 483 (1945).
21. MEROVICI, MARTINSON, Biohimia, **1**, 11 (1946) ; **3**, 10, 258 (1945).
22. „ * „ Novelli, Science, **94**, 497 (1941).
23. PAGO I. E., ROBINSON F. A., J. Chem. Soc. (1943), 133.
24. PALLADIN, *Vitamina K*, Moscova, 1944.
25. PEUPE F., Collection, **12**, 225 (1947).
26. PINDER I. L., SINGER I. H., Analyist, **65**, 7 (1940).
27. RYUICHI GOTO-ISAMU TACHI, *Kinetic consideration on polarographic curent-voltage curves, Sbornik I. mezinarodniko polarografikeho sjezdu*, 1951, 69.
28. SÁNDI E., Magy. Kém. Foly., **57**, 169 (1951).
29. SCHULEK RÓZSA, Magy. Kém. Foly., **47**, 84 (1941).
30. — Z. Anal. Chem., **121**, 258 (1941) ; Magy. Kém. Foly., **46**, 1955 (1940).
31. — Magy. Kém. Foly., **47**, 75 (1941). Microchim. Acta, **29**, 178 (1941), Ber. **75**. 1548 (1942).
32. — Z. Anal. Chem., **115**, 185 (1939) ; J. Amer. Chem. Soc., **52**, 1443 (1939).
33. SCUDI, BUHS J. biol. Chem., **144**, 599 (1942).
34. SMUK, GUSENOVA, *Dări de seamă ale laboratorului central de cercetări tehnice.* Ind. Sovietică de vitamine, 1942.
35. TEUNER, BAHIER, J. biol. Chem., **137**, 745 (1941).
36. ZAHAROVA DEVIATNIN, Biohimia, **9**, 5 (1944).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3–4, 1956

ASUPRA ACŢIUNII CAROTINOIDELOR ÎN PROCESE DE AUTOXIDARE ŞI POLIMERIZARE

NOTA V. AUTOXIDAREA ŞI POLIMERIZAREA DISACRILICĂ A ACROLEINEI ÎN PREZENŢĂ DE α- şi β-CAROTINĂ

DE

C. BODEA şi A. MOLDOVAN

Am arătat în lucrări anterioare cum carotina poate fi folosită în studiul reacţiilor de autoxidare a substanţelor ce fixează oxigenul molecular sub formă peroxidică [1]. Urmărind absorbţia de oxigen în prezenţa unor cantităţi mici de carotină (α- sau β-), se pot trage concluzii asupra naturii reacţiei de autoxidare. În cazul cînd reacţia, iniţiată de un număr restrîns de radicali, decurge în lanţuri lungi, se înregistrează o blocare a absorbţiei de oxigen (cazul aldehidelor saturate şi aromatice). Cînd numărul radicalilor prezenţi iniţial este mare şi reacţia decurge în lanţuri scurte, se constată numai o încetinire a absorbţiei de oxigen (cazul radicalilor cu carbon trivalent).

Pentru studiul mecanismului de autoxidare a aldehidelor au servit aldehidele saturate şi cele aromatice. Se pune întrebarea dacă reacţia de autoxidare a aldehidelor nesaturate este de asemenea o reacţie în lanţuri lungi, ce se transmite prin radicali $R—C\overset{O}{\underset{\cdot}{\diagup\!\!\!\diagup}}$ şi $R—C\begin{matrix}\diagup\!\!\!\diagup O \\ \diagdown O-O.\end{matrix}$. În cazul aldehidelor saturate şi aromatice formarea radicalilor peracilici, $R—C\begin{matrix}\diagup\!\!\!\diagup O \\ \diagdown O-O\end{matrix}$, este confirmată între altele şi de existenţa peracizilor respectivi, cum sînt acidul peracetic şi perbenzoic. În schimb, nu am găsit menţionată existenţa unor peracizi nesaturaţi, cum ar fi de exemplu acidul peracrilic. În cazul cînd s-ar forma totuşi radicali peracilici în procesul de autoxidare a aldehidelor nesaturate, există posibilitate ca aceştia să cedeze atomul de oxigen peroxidic dublei legături din molecula aldehidei cu formare de epoxid. Aldehidele nesaturate manifestă de asemenea o mare tendinţă spre polimerizare.

Aceste comportări specifice ale aldehidelor nesaturate lasă întrebarea deschisă, dacă mecanismul lor de autoxidare este identic cu cel al aldehidelor saturate şi aromatice.

Prezentul studiu a avut ca scop cercetarea sub acest aspect al autoxidării acroleinei în prezența unor cantități mici de α - sau β - carotină. Rezultatele obținute urmau să confirme și funcționarea carotinei ca acceptor de oxigen peroxidic, constatată în lucrările noastre citate mai sus. Am căutat de asemenea să cunoaștem dacă și în ce sens cantități mici de carotină influențează polimerizarea disacrilică a acroleinei.

a. Autoxidarea acroleinei în prezență de carotină

Acroleina a fost preparată din glicerină prin deshidratare cu SO_4HK la 190—200° după metoda și în aparatura recomandată de Ch. Moureu

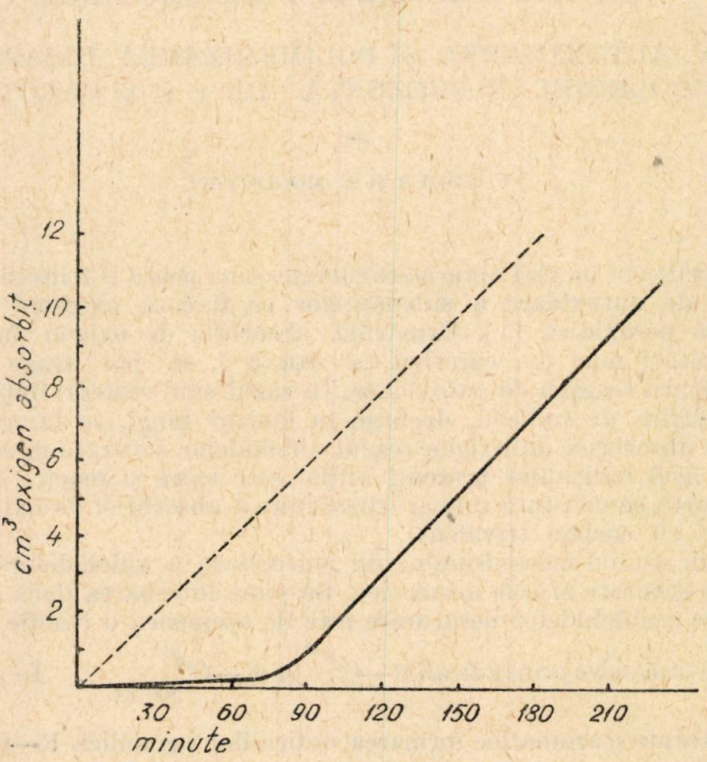


Fig. 1. — Consumul de oxigen
---------- acroleină
———— acroleină + α- sau β-carotină.

și Ch. Dufraisse [4]. Distilatul a fost prins într-un balon în care se găsea o cantitate mică de hidrochinonă ca substanță anti-oxigen. În prezență de hidrochinonă și în absență de oxigen și de lumină, acroleina se poate păstra cîtva timp. Pentru experiențele de mai jos acroleina a fost întotdeauna proaspăt redistilată.

Întrucît autoxidarea acroleinei are loc foarte repede, am lucrat cu o soluție benzenică de acroleină. Pentru măsurarea absorbției de oxigen ne-am servit de aparatura folosită în cercetarea autoxidării aldehidelor

saturate şi a celor aromatice [3]. Într-unul din balonaşe am introdus 10 cm³ soluţie benzenică de acroleină, preparată prin dizolvarea a 10 cm³ acroleină în 40 cm³ benzen, iar în celălalt balonaş, aceeaşi cantitate de soluţie benzenică de acroleină în care au mai fost dizolvate şi 2 mg carotină α sau β. Balonaşele au fost expuse luminii solare indirecte, la temperatura de 20°C.

Din rezultatele obţinute, reprezentate prin graficul din figura alăturată, rezultă că procesul de autoxidare al acroleinei este blocat de către cantităţile mici de carotină ca şi în cazul aldehidelor saturate şi aromatice. Carotina se decolorează treptat, iar atunci cînd decolorarea este completă, blocarea autoxidării încetează şi absorbţia de oxigen porneşte cu aceeaşi viteză ca şi în proba fără carotină. Comportarea sistemului acroleină-carotină este deci identică cu cea a sistemelor formate din aldehide saturate sau aromatice şi carotină.

Concluziile ce le tragem din aceste experienţe sînt următoarele: Carotina funcţionează şi în procesul de autoxidare a acroleinei ca acceptor de oxigen peroxidic. Aceasta are drept urmare blocarea absorbţiei de oxigen şi este însoţită de decolorarea carotinei. Procesul de autoxidare a acroleinei şi prin analogie a aldehidelor nesaturate în general, se desfăşoară după acelaşi mecanism ca cel al aldehidelor saturate şi aromatice; reacţia de autoxidare este o reacţie în lanţuri lungi, ai căror promotori sînt radicalii acilici şi peracilici nesaturaţi. Trebuie să existe deci un acid peracrilic, probabil de stabilitate foarte mică.

Blocarea autoxidării aldehidelor nesaturate de către carotină poate avea importanţă fiziologică. În organele plantei bogate în carotină sînt prezente şi aldehide nesaturate, cu rol fiziologic încă prea puţin precizat, ca aldehida hexilenică, $CH_3—CH_2—CH_2—CH=CH—CHO$, numită aldehida frunzelor. Clorofila b prezintă de asemenea caracteristicile unei aldehide nesaturate. Datorită funcţionării ei ca acceptor de oxigen peroxidic, carotina împiedică distrugerea acestor aldehide prin autoxidare.

b. Polimerizarea disacrilică a acroleinei în prezenţă de carotină

Se ştie că acroleina este o substanţă ce se polimerizează excepţional de uşor. În prezenţa unor urme de oxigen, de impurităţi, lumină etc., acroleina se polimerizează repede cu formarea unei pulbere albe, amorfe, numită în general disacril, ce corespunde formulei brute $C_{10}H_4O_4$. Structura mai exactă a acestui polimer nu a putut fi lămurită. Disacrilul este insolubil în solvenţi organici. El se deosebeşte de un alt polimer al acroleinei, care se obţine sub acţiunea bazelor asupra acroleinei şi care se prezintă ca o masă amorfă, transparentă, solubilă în solvenţi organici.

Obţinerea acroleinei lipsite complet de disacril este o operaţie dificilă, ce nu poate reuşi decît prin folosirea unei aparaturi speciale. Noi am constatat că acroleina dizolvă cantităţi mici de disacril. Prezenţa disacrilului în acroleină nu se poate recunoaşte decît prin introducerea acroleinei într-un solvent organic, de exemplu în benzen, în care disacrilul insolubil apare sub forma unui precipitat alb, foarte fin. Am preparat acroleină în aparatura arătată mai sus, în atmosferă de CO_2, şi am prins acroleina direct în benzen. Chiar în aceste condiţii acroleina conţinea cantităţi mici de disacril.

Pentru a cerceta influenţa carotinei asupra polimerizării disacrilice a acroleinei, am preparat acroleină în atmosferă de CO_2, prinzînd în două probe paralele cîte 2 cm^3 acroleină în 8 cm^3 benzen. Într-una din probe se găseau dizolvate în benzen 2 mg carotină. Ambele probe au fost lăsate în contact cu aerul timp de o oră. Disacrilul format a fost apoi filtrat prin creuzet cu placă filtrantă şi uscat în vid. Experienţele reluate şi în alte condiţii au arătat că în prezenţa carotinei se formează întotdeauna o cantitate mult mai mare de disacril decît în probele fără carotină. Am obţinut de exemplu :

în proba fără carotină 0,0020 g disacril
în proba cu carotină 0,0107 g disacril.

Ajungem astfel la concluzia că prin prezenţa ei, în cantitate mică, carotina blochează procesul de autoxidare al acroleinei şi accelerează polimerizarea disacrilică.

Moureu şi Dufraisse [4] au studiat autoxidarea şi polimerizarea disacrilică a acroleinei în prezenţa unor substanţe zise antioxigen, cum este de exemplu hidrochinona, şi au stabilit că acestea opresc atît autoxidarea cît şi polimerizarea disacrilică. Chiar dacă mecanismul polimerizării disacrilice a rămas necunoscut, inhibirea polimerizării de către substanţele antioxigen demonstrează rolul important pe care îl joacă oxigenul în mecanismul polimerizării.

Comportarea carotinei în procesul de polimerizare disacrilică, contrară substanţelor antioxigen studiat de către Moureu şi Dufraisse, credem că trebuie căutată în intervenţia oxigenului peroxidic. Este ştiut că procesul de polimerizare a numeroase hidrocarburi nesaturate şi a derivaţilor lor ca butadiena, derivaţii vinilici etc. este accelerat de către cantităţi mici de peroxizi sau hidroperoxizi. Carotina fixează, după cum am arătat într-un studiu anterior [2], în contact cu aerul, oxigenul sub formă hidroperoxidică pe inelele ononice. În cazul de faţă atribuim hidroperoxidului de carotină rolul de promotor al polimerizării disacrilice.

Substanţele ca butadiena şi derivaţii vinilici, de la care se obţin produşi de polimerizare de mare importanţă tehnică, sînt toate uşor autoxidabile. Proprietatea specifică a carotinei de a acţiona, pe de o parte, ca substanţă care blochează prin sistemul ei de duble legături procesul de autoxidare şi de a forma, pe de altă parte, un hidroperoxid ce promovează polimerizarea, credem că deschide perspective pentru utilizarea ei ca promotor în tehnica polimerilor înalţi.

Catedra de chimie biologică şi agrochimie,
Institutul agronomic, Cluj

Prezentat la redacţie la 1 aprilie 1955

О ДЕЙСТВИИ КАРОТИНОИДОВ В ПРОЦЕССАХ САМООКИСЛЕНИЯ И ПОЛИМЕРИЗАЦИИ

Сообщение V. ДИСАКРИЛОВОЕ САМООКИСЛЕНИЕ И ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ АКРОЛЕИНА В ПРИСУТСТВИИ КАРОТИНОВ α И β

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Были исследованы дисакриловое самоокисление и полимеризация акролеина в присутствии малых количеств каротина α и β.

Полученные результаты подтверждают, что каротин работает как восприниматель перекисного кислорода, что приводит к блокированию

процесса самоокисления акролеина. Это реакция длинноцепная, как и в случае насыщенных и ароматических альдегидов; ее возбудителями являются ациловые и перациловые радикалы.

Малые количества каротина ускоряют дисакриловую полимеризацию акролеина. Авторы допускают, что это действие обусловлено образованием водной перекиси каротина. Обращается внимание на возможность использования каротина как возбудителя при реакциях полимеризации.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Расход кислорода. - - - Акролеин. ——— Акролеин + α- или β - каротин.

L'ACTION DES CAROTINOÏDES DANS LES PROCESSUS D'AUTO-OXYDATION ET DE POLYMÉRISATION

NOTE V. L'AUTO-OXYDATION ET LA POLYMÉRISATION DISACRYLIQUE DE L'ACROLÉINE EN PRÉSENCE DE LA CAROTINE α OU β

(RÉSUMÉ)

Les auteurs ont étudié l'auto-oxydation et la polymérisation de l'acroléine en présence de petites quantités de carotine α ou β.

Les résultats obtenus confirment que la carotine agit comme accepteur d'oxygène peroxydique, ce qui conduit au blocage du processus d'oxydation de l'acroléine. Cette réaction est, comme dans le cas des aldéhydes saturées et aromatiques, une réaction à longues chaînes, dont les promoteurs sont les radicaux acyliques et peracyliques.

Les petites quantités de carotine accélèrent la polymérisation disacrylique de l'acroléine. Les auteurs admettent que cette action est due à la formation d'hydroperoxyde de carotine. Ils attirent l'attention sur la possibilité d'utiliser la carotine comme promoteur dans les réactions de polymérisation.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Consommation d'oxygène. – – – – – acroléine ; ——— acroléine + α- ou β-carotine.

BIBLIOGRAFIE

1. BODEA C., FLORESCU M., Acad. R.P.R., Bucureşti, Studii şi cercetări de chimie, **III**, *1—2*, 93 (1955).
2. BODEA C., NICOARĂ E., Acad. R.P.R., Bucureşti, Studii şi cercetări de chimie, **III**, *1—2*, 81 (1955).
3. BODEA C., NICOARĂ E., GROSS J., Acad. R.P.R., Cluj, Studii şi cercetări ştiinţifice, *3—4*, 51 (1953).
4. MOUREU CH., DUFRAISSE CH., Bull. Soc. Chim. France, **31**, 1152 (1922).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

ASUPRA ACŢIUNII CAROTINOIDELOR ÎN PROCESE DE AUTOXIDARE ŞI POLIMERIZARE

NOTA VI. FUNCŢIONAREA XANTOFILEI, LICOPINEI ŞI A CROCETINEI CA ACCEPTORI DE OXIGEN PEROXIDIC

DE

C. BODEA, M. FLORESCU şi J. GROSS

Am demonstrat într-un studiu anterior mecanismul de transformare al α— şi β carotinei în xantofile [2]. Acest mecanism se bazează pe două comportări caracteristice ale carotinei şi anume de a funcţiona în contact cu radicali peroxidici ca acceptor de oxigen peroxidic [3] şi de a forma în contact cu oxigenul molecular hidroperoxid, cu gruparea hidroperoxidică fixată pe nucleele iononice.

Existenţa în natură a numeroase alte carotinoide, mai mult sau mai puţin apropiate de structura carotinei, ridică încă multe probleme cu privire la mecanismul lor de acţiune şi de transformare.

Carotina funcţionează ca acceptor de oxigen peroxidic prin sistemul ei de duble legături etilenice, fixînd atomii de oxigen peroxidic sub formă epoxidică. Era de aşteptat ca şi alte carotinoide să prezinte o comportare analogă. Întrucît intenţia noastră este de a cerceta mecanismul de acţiune şi de transformare şi al altor carotinoide, cu particularităţi structurale diferite, am considerat mai întîi ca necesară verificarea experimentală a funcţionării lor ca acceptor de oxigen peroxidic. Confirmarea acestei comportări ar indica un mecanism de acţiune apropiat de cel al carotinei şi ar permite utilizarea practică şi a celorlalte carotinoide ca substanţe antioxigen în conservarea substanţelor autoxidabile ce fixează oxigenul sub formă peroxidică, cît şi în studiul reacţiilor de autoxidare în lanţuri [1].

Am lucrat cu trei carotinoide de tip diferit şi anume: din grupa carotinoidelor cu 40 atomi de carbon, cu xantofilă (luteină), ca reprezentant al carotinoidelor hidroxilate cu inele iononice şi cu licopina, ca reprezentant al carotinoidelor ce nu dispun în moleculă de cicluri iononice, ci de sisteme numite pseudoiononice. Din grupa carotinoidelor cu mai puţin de 40 atomi de carbon am ales crocetina, care este după cum se ştie un acid bibazic polienic, ce dispune în moleculă de şapte duble legături conjugate.

Ca şi în cazul carotinei, proprietatea de acceptor de oxigen peroxidic a rezultat din studiul autoxidării aldehidei benzoice şi acetice şi a ciclohexenei în prezenţa unor cantităţi mici de carotinoidă.

Partea experimentală

Pentru izolarea xantofilei am recurs la frunze uscate de castan și am luat ca bază în primul rînd metoda descrisă de R. Kuhn și Gh. Grundmann [6], care constă, în principiu, în extragerea materialului fin măcinat cu eter și alcool metilic, saponificare la rece cu KOH în soluție metanolică și cristalizare din eter. Am obținut, din 250 g frunze uscate, 50 mg xantofilă cristalizată. Înainte de utilizare, xantofila a fost recristalizată din ame tec metanol-eter. Xantofila recristalizată se prezintă sub formă de cristale prizmatice, de culoare roșie-rubinie.

Licopina se găsește în cantități mai mari în roșii (*Licopersicum esculentum*), constituind pigmentul principal al fructelor coapte. Am izolat licopina din pastă de roșii uscată cu SO_4Na_2 sicc., prin extragere cu S_2C, precipitare cu alcool metilic, spălare cu eter de petrol și recristalizare din S_2C, urmînd indicațiile date de R. Kuhn, A. Winterstein și E. Lederer [7]. Am obținut din 1 kg pastă de roșii 100 mg licopină cristalizată. Aceasta se prezintă macroscopic sub forma unei mase catifelate, de culoare roșie-carmin, formată din cristale aciculare.

Crocetina este unul din pigmenții șofranului, ce se obține din staminele uscate de *Crocus sativus*. În stamine crocetina se găsește atît liberă, cît și esterificată cu două molecule de gentiobioză, purtînd sub această formă numele de crocină. Sub acțiunea alcaliilor crocina se hidrolizează excepțional de ușor cu punerea în libertate a crocetinei.

În literatură se găsesc metode de izolare a crocetinei din șofran. Neavînd la dispoziție șofran, am izolat crocetina din stamine uscate de *Crocus sativus*. Ne-am condus cu acest scop după lucrările lui P. Karrer și H. Salomon [5] și P. Karrer și A. Helfenstein [4], privind izolarea crocetinei din șofran. Principiul urmat este următorul: se extrag mai întîi cu eter materiile grase, uleiurile eterice și picrocrocina. Urmează extragerea crocetinei și a crocinei cu alcool. Se saponifică la rece cu KOH în soluție apos-alcoolică, ceea ce duce la formarea esterului etilic al crocetinei. Se fierbe esterul etilic cu soluție alcoolică de KOH. Se obține în urma saponificării sarea de potasiu a crocetinei. Prin fierbere cu acid acetic glacial, acidul (crocetina brută) este eliberat. Se cristalizează din piridină. Crocetina recristalizată se prezintă sub formă de foițe strălucitoare, de culoare intens roșie. Am obținut din 20 g stamine uscate 18 mg crocetină recristalizată.

Pentru determinarea oxigenului absorbit în procesele de autoxidarea aldehidei benzoice și acetice și a ciclohexenei în prezență de xantofilă, licopină sau crocetină, ne-am servit de tuburile barometrice cu balonașe, folosite și în lucrările noastre citate mai sus.

În cazul aldehidelor, benzoică și acetică, am lucrat cu soluții 5% aldehidă și 0,01% carotinoidă, introducînd în balonașe cîte 5 cm^3 soluție aldehidică cu și fără adaos de carotinoidă. Solvenții au fost aleși potrivit solubilității carotinoidei respective. În cazul xantofilei, am lucrat în soluție acetonică, în cazul licopinei în soluție benzenică și în cazul crocetinei în soluție piridinică. Autoxidarea aldehidei benzoice a fost urmărită la temperatura de 18—22°C, iar cea a aldehidei acetice la 10—15°C în prezența de lumină solară indirectă.

Întrucît rezultatele sînt principial identice, ne mărginim să redăm sub formă de grafice autoxidarea sistemului aldehidă benzoică - crocetină (fig. 1), aldehidă acetică - licopină (fig. 2) și ciclohexenă - xantofilă (fig. 3).

Se constată că toate cele trei carotinoide blochează procesul de autoxidare al aldehidelor. Această acțiune a carotinoidelor este însoțită de decolorarea lor. Atunci cînd soluțiile sînt complet decolorate, blocarea procesului de autoxidare încetează și absorbția de oxigen pornește cu aceeași viteză ca și în proba fără carotinoidă. Durata timpului de blocare este variabilă la diferitele experiențe, după temperatura și luminozitatea zilei respective.

În cazul xantofilei autoxidarea aldehidei benzoice a fost urmărită și în lumină solară directă, celelalte condiții experimentale rămînînd aceleași. Durata de blocare a autoxidării și de decolorare a soluției a fost în aceste împrejurări redusă la numai trei minute.

Autoxidarea ciclohexenei a fost urmărită numai în cazul xantofilei și licopinei. Am introdus în balonașe o soluție de 7 cm^3 ciclohexenă în 8 cm^3 acetonă, iar într-unul din balonașe am adăugat 1 mg xantofilă sau licopină. Ciclohexena a fost proaspăt preparată prin deshidratarea ciclohexanolului cu bisulfat de potasiu. Absorbția a fost urmărită la temperatura de 17 și 20°C, la lumina solară indirectă.

Rezultatele redate în graficul din figura 3 arată o încetinire a autoxidării, însoțită de decolorarea carotinoidelor. Încetinirea autoxidării a durat între 4 și 12 ore, după temperatura și luminozitatea zilei respective.

În mod evident, durata blocării, respectiv încetinirii proceselor de autoxidare, este în funcție de cantitatea de carotinoidă luată în experiență.

Pentru a ilustra faptul că decolorarea carotinoidelor este o consecință a mecanismului de autoxidare a aldehidelor, respectiv a ciclohexenei și nu o urmare a autoxidării carotinoidei, am expus soluții 0,01% din xantofilă în acetonă, de licopină în benzen și de crocetină în piridină, contactului cu aerul și am constatat că după opt zile soluția de xantofilă nu prezenta o decolorare vizibilă, iar soluția de licopină și crocetină nu era decît puțin decolorată.

Interpretarea rezultatelor

Rezultatele obținute arată o comportare a carotinoidelor cercetate, analogă celei a α - și β - carotinei. Concluziile la care ne-au dus cercetările asupra intervenției carotinei în procesele de autoxidare, rămîn astfel valabile și pentru xantofilă, licopină și crocetină. Blocarea procesului de autoxidare a aldehidelor și încetinirea procesului de autoxidare a ciclohexenei, însoțită de decolorarea în timp scurt a carotinoidelor, se datorește acceptării, de către sistemul lor de duble legături, a oxigenului peroxidic, care provine din radicalii peroxidici ce se formează în procesul de autoxidare a aldehidelor și a ciclohexenei.

Faptul că în cazul ciclohexenei se înregistrează, ca și în prezența α- și β- carotinei, numai o încetinire și nu o blocare a absorbției de oxigen, confirmă cele arătate în lucrarea noastră [1], că procesul de autoxidare al ciclohexenei este, spre deosebire de cel al aldehidelor, o reacție în lanțuri scurte.

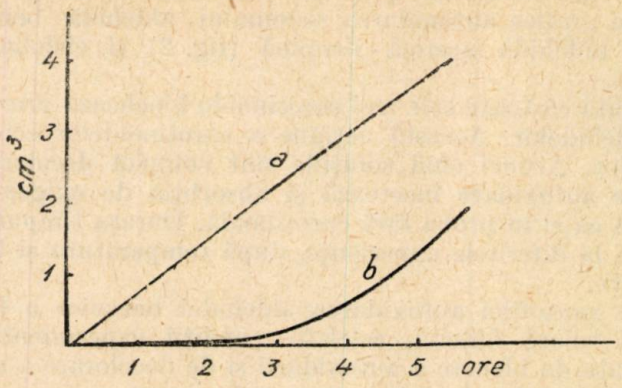


Fig. 1. — Consumul de oxigen la lumină solară indirectă.
a, aldehidă benzoică; *b*, aldehidă benzoică + crocetină.

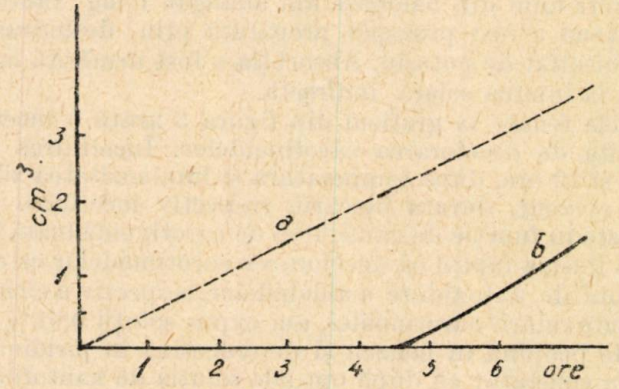


Fig. 2. — Consumul de oxigen la lumină solară indirectă.
a, aldehida acetică; *b*, aldehida acetică + licopină.

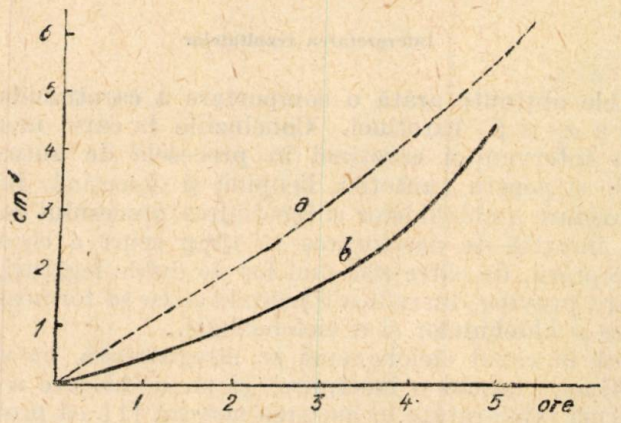


Fig. 3. — Consumul de oxigen la lumină solară indirectă.
a, ciclohexenă; *b*, ciclohexenă + xantofilă.

Oxigenul peroxidic se fixează pe dublele legături ale carotinoidelor sub formă epoxidică conform: R—O—O · + carotinoidă → R—O · + + epoxid de carotinoidă.

Structura mai exactă a epoxizilor de carotinoidă va fi supusă în viitor unui studiu mai amănunţit.

Cele trei carotinoide luate în cercetare fiind, după cum am arătat, de tip diferit, putem trage concluzia că funcţionarea ca acceptor de oxigen peroxidic în procesul de autoxidare este o caracteristică generală a tuturor carotinoidelor. Drept urmare toate carotinoidele pot fi folosite atît ca substanţe antioxigen în conservarea substanţelor autoxidabile, care formează în contact cu oxigenul molecular radicali peroxidici, cît şi în studiul reacţiilor de autoxidare în lanţuri.

Această comportare caracteristică a carotinoidelor trebuie să stea la baza mecanismului de acţiune şi de transformare a carotinoidelor *in vivo*. Este de aşteptat că acest mecanism să fie analog celui stabilit de către noi pentru transformarea α- şi β- carotinei în xantofilă [2]. În această direcţie vor fi continuate cercetările noastre.

Catedra de chimie biologică şi agrochimie,
Institutul agronomic, Cluj

Prezentat la redacţie la 30 aprilie 1955

О ДЕЙСТВИИ КАРОТИНОИДОВ В ПРОЦЕССАХ САМООКИСЛЕНИЯ И ПОЛИМЕРИЗАЦИИ

Сообщение VI. ДЕЙСТВИЕ КСАНТОФИЛА, ЛИКОПИНА И КРОЦЕТИНА В КАЧЕСТВЕ ВОСПРИНИМАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО КИСЛОРОДА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Было исследовано в последовательном порядке самооскисление бензойного и уксусного альдегида и циклогексена в присутствии трех каротиноидов разного типа: ксантофила (гидроксилированный каротиноид), ликопина (каротиноид с псевдоиононовыми системами) и кроцетина (двуосновная кислота серии каротиноидов с числом атомов углерода меньше 40).

Ксантофил был извлечен из сухих листьев каштана, ликопин—из томатов, а кроцетин—из сухих тычинок Crocus sativus. Все три каротиноида были получены в кристаллическом состоянии.

Было установлено, что эти каротиноиды ведут себя как и каротин α и β, исследованные в предыдущих работах. В присутствии малых количеств каротиноида самоокисление альдегидов приостанавливается, а самоокисление циклогексена лишь замедляется. Действие каротиноидов сопровождается их обесцвечиваниями и прекращается тогда, когда растворы делаются бесцветными.

Действие каротиноидов объясняется перерывом реакций самоокисления с длинными цепями (альдегиды) или с короткими цепями (циклогексен), за счет перехода атома перекисного кислорода от перекисных радикалов к системе двойных связей каротиноидов.

Выводится заключение, что все каротиноиды, независимо от группы, к которой они принадлежат, работают как восприниматели перекисного

кислорода, что позволяет использовать их в качестве антикислородных веществ в процессах самоокисления, в которых появляется перекисный кислород, а также и для изучения механизма реакций самоокисления.

Эти результаты будут служить основой для дальнейшего исследования механизма действия и превращения различных каротиноидов.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Потребление кислорода при непрямом солнечном освещении. *a* — бензойный альдегид; *b* — бензойный альдегид + крецетин.

Рис. 2. — Потребление кислорода при непрямом солнечном освещении. *a* — уксусный альдегид; *b* — уксусный альдегид + ликопин.

Рис. 3. — Расход кислорода при непрямом солнечном освещении. *a* — циклогексен; *b* — циклогексен + ксантофил.

L'ACTION DES CAROTINOÏDES DANS LES PROCESSUS D'AUTO-OXYDATION ET DE POLYMÉRISATION

NOTE VI. LE FONCTIONNEMENT DE LA XANTHOPHILE, DE LA LYCOPÈNE ET DE LA CROCÉTINE COMME ACCEPTEURS D'OXYGÈNE PEROXYDIQUE

(RÉSUMÉ)

Les auteurs ont étudié l'auto-oxydation de l'aldéhyde benzoïque, de l'aldéhyde acétique et du cyclohexène, successivement en présence de trois carotinoïdes de type différent : xanthophile (carotinoïde hydroxylée), lycopène (carotinoïde à systèmes pseudo-iononiques) et crocétine (acide bibasique de la série des carotinoïdes ayant moins de 40 atomes de carbone).

La xanthophile a été extraite des feuilles de marronnier sèches, la lycopène, de la pâte de tomates, et la crocétine, d'étamines sèches de *Crocus sativus*. Les trois carotinoïdes ont été obtenues à l'état cristallisé.

Les auteurs ont établi que ces carotinoïdes se comportent de la même manière que la carotine α ou β, étudiée précédemment. L'auto-oxydation des aldéhydes est bloquée, tandis que celle du cyclohexène n'est que ralentie en présence de petites quantités de carotinoïde. L'action des carotinoïdes est accompagnée de leur décoloration et cesse lorsque les solutions sont devenues incolores.

L'action des carotinoïdes est due à l'interruption des réactions d'auto-oxydation à longues chaînes (aldéhydes) ou à chaines courtes (cyclohexène), les radicaux peroxydiques cédant l'atome d'oxygène peroxydique au système à double liaison des carotinoïdes.

Les auteurs concluent que toutes les carotinoïdes, sans égard au groupe auquel elles appartiennent, agissent comme accepteurs d'oxygène peroxydique, ce qui permet leur utilisation comme produits antioxygène dans les processus d'auto-oxydation où apparaît de l'oxygène peroxydique, ainsi que pour l'étude du mécanisme des réactions d'auto-oxydation.

Ces résultats serviront de point de départ à de futures études relatives au mécanisme de l'action et de la transformation des différentes carotinoïdes.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Consommation d'oxygène à la lumière solaire indirecte.
a) aldéhyde benzoïque ; *b*) aldéhyde benzoïque + crocétine.
Fig. 2. — Consommation d'oxygéne à la lumière solaire indirecte.
a) aldéhyde acétique ; *b*) aldéhyde acétique + lycopène.
Fig. 3. — Consommation d'oxygène à la lumière solaire indirecte.
a) cyclohexène ; *b*) cyclohexène + xanthophile.

BIBLIOGRAFIE

1. BODEA C., FLOREȘCU M., *Asupra acțiunii carotinoidelor în procese de autoxidare și polimerizare. Nota III. Autoxidarea unor radicali cu carbon trivalent în prezență de α- și β-carotină.* Acad. R.P.R., București, Studii și cercetări de chimie, **III**, *1—2*, 93, ianuarie-iunie (1955).
2. BODEA C., NICOARĂ E., *Asupra autoxidării carotinoidelor. Nota I. Mecanismul de autoxidare al α- și β-carotinei.* Acad. R.P.R., București, Studii și cercetări de chimie, **III**, *1—2*, 81, ianuarie-iunie (1955).
3. BODEA C., NICOARĂ E, GROSS J., Acad. R.P.R., Cluj, Studii și cercetări științifice, **IV**, *3—4*, 151 (1953).
4. KARRER P., HELFENSTEIN A., Helv. Chim. Acta, **13**, 392 (1930).
5. KARRER P., SALOMON H., Helv. Chim Acta, **10**, *397* (1927).
6. KUHN R., GRUNDMANN GH., Ber., **65**, 1880 (1932).
7. KUHN R., WINTERSTEIN A., LEDERER E., Z. physiol. Chem., **197**, 141 (1931).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

ACŢIUNEA ANTITUBERCULOASĂ A UNOR HIDRAZIDE ŞI HIDRAZONE DERIVATE DIN ACIZII *p*-AMINO-*o*-HALOGENO-BENZOICI*)

DE

L. STOICESCU-CRIVETZ şi L. MĂNDĂŞESCU

Continuînd studiul modificării grupei carboxilice din acizii *p*-amino-*o*-halogeno-benzoici, pentru a vedea influenţa produsă asupra acţiunii antituberculoase, ne-am propus să preparăm o serie de esteri, hidrazide şi hidrazone noi, hidrazidele avînd restul — NH—NH_2 care se găseşte şi în tiosemicarbazone, substanţe active.

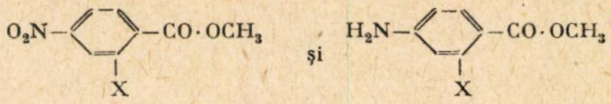
Deşi între timp s-a găsit că hidrazida acidului *izo*-nicotinic, rimifonul(I), are o puternică acţiune asupra bacililor tuberculozei, totuşi am continuat cercetările noastre, avînd în vedere acţiunea însăşi a substanţelor de plecare. Şi alţi cercetători [1] au studiat acţiunea unor hidrazide şi hidrazone corespunzătoare, găsind că produsele obţinute posedă o activitate neînsemnată din punct de vedere practic în comparaţie cu a rimifonului.

(I)

Pentru obţinerea hidrazidelor am preparat esterii metilici ai acizilor *p*-nitro- şi *p*-amino-*o*-halogeno-benzoici, substanţe care ar putea avea şi ele acţiune antituberculoasă, ca şi esterii acidului P.A.S., fapt arătat de K. G. Rosdahl şi colaboratori [2]. Acest autor indică pentru esteri o activitate cam de acelaşi ordin de mărime ca şi acidul liber. R. Hirt şi H. Hurni [3] găsesc pentru *p*-amino-salicilatul de metil o activitate, la concentrare, de 1.10^{-3} mol/l, pe cînd la acidul *p*-amino-salicilic, la concentrare, de 1.10 + $^{-}$4,4 mol/l (a se vedea şi H. Benedikt şi N. Eibl)[4].

*) Lucrare prezentată în Sesiunea generală a Academiei R.P.R. din 30 iunie 1955

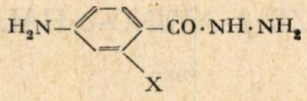
Dintre esterii preparaţi de noi, de tipul



a) (II) b)

esterul acidului *p*-amino-*o*-brom- şi *o*-iod-benzoic posedă *in vitro* o activitate ceva mai mică decît acizii respectivi, în concentrare de 10^{-4} mol/l, probabil din cauza insolubilităţii lor. De altfel şi Rosdahl a găsit că esterul metilic al acidului P.A.S. are în apă o solubilitate de 0,2%.

Aceşti esteri prin tratare cu hidratul de hidrazină trec în hidrazide.



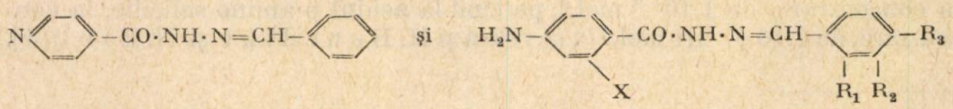
(III)

De remarcat că, la prepararea hidrazidelor acizilor *p*-nitro-*o*-halogeno-benzoici, o dată cu introducerea restului de hidrazină, se reduce şi grupa nitro din poziţia *para*. Atît din acizii *p*-nitro- cît şi *p*-amino se obţin aceleaşi hidrazide. În cazul acidului *p*-nitro-*o*-iod-benzoic se reduce iodul, obţinîndu-se hidrazida acidului *p*-nitro-benzoic.

C. V. Gheorghiu şi colaboratori [5], [6] au arătat că prin introducerea radicalului *p*-tolil-tiocarbamoil ($H_3C—C_6H_4—NH—C=S$) în substanţe cu acţiune antibacteriană se obţin compuşi cu o puternică activitate antituberculoasă; mai mult încă, introducerea acestui rest conferă o puternică acţiune antituberculoasă chiar şi substanţelor lipsite de activitate antibacteriană, cum ar fi acizii *o*- şi *p*-amino-benzoici, sulfanilatul şi naftionatul de sodiu.

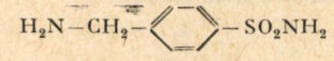
Acidul *izo*-nicotinic nu are activitate antituberculoasă şi prin introducerea restului —NH—NH_2 se obţine rimifonul, substanţă puternic activă. Era de aşteptat ca introducerea acestei grupe în produşi care prezintă deja o activitate de ordinul 10^{-5} mol/l să producă o creştere simţitoare a acesteia. Spre surprinderea noastră, hidrazidele acizilor de mai sus, au o acţiune de 10 ori mai redusă decît a substanţelor de plecare şi incomparabil mai mică decît rimifonul, deci din punct de vedere practic nu prezintă interes.

Sciukina şi colaboratori [7], studiind acţiunea unor *izo*-nicotinoil-hidrazone (IV), derivate din hidrazida acidului *izo*-nicotinic cu aldehide aromatice, au arătat că acestea au o acţiune mai mare şi sînt mai bine tolerate decît rimifonul. Bazaţi pe cercetările acestor autori, am preparat o serie de hidrazone derivate din hidrazidele acizilor *p*-amino-*o*-halogeno-benzoici cu aldehide aromatice (V)

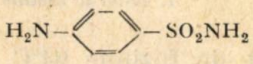


(IV) (V)

Încercările biologice au arătat că și hidrazonele ca și hidrazidele nu au o acțiune antituberculoasă demnă de luat în considerație. Hidrazida acidului *izo*-nicotinic diferă de hidrazidele acizilor *p*-amino-*o*-halogeno-benzoici prin aceea că posedă un atom de azot terțiar, care face parte din ciclul de piridină, pe cînd atomul de azot la acidul de mai sus aparține unei grupe aminice primare, fixată tot în poziția *para* față de grupa hidrazidică. Această deosebire de structură, în aparență neînsemnată, poate provoca diferența în manifestarea antibacteriană. De altfel și sulfamilona (VI), spre deosebire de sulfamidă (VII)



(VI)



(VII)

are legată grupa aminică de nucleul benzenic printr-o grupă metilenică, totuși prezintă o activitate antibacteriană asupra multor germeni patogeni (gangrena gazoasă, tetanos) asupra cărora sulfamida nu are efect.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. Esterul metilic al acidului p-nitro-o-clor-benzoic

A fost obținut după metoda lui D. I. Draim și colaboratori [8] întrebuințată la prepararea esterului metilic al acidului P.A.S. La o soluție de 6 g acid *p*-nitro-*o*-clor-benzoic în 160 cm³ alcool metilic se adaugă cu încetul, răcind tot timpul, 8 cm³ acid sulfuric concentrat. Se încălzește apoi amestecul pe baie de apă sub refrigerent ascendent 6—8 ore. La răcire se separă esterul aproape pur. Se filtrează cristalii formați, iar din filtrat, după evaporarea solventului, se mai separă o nouă porțiune. Se recristalizează din alcool diluat. Cristali incolori, solubili în alcool, insolubili în apă, eter, benzen, punct de fuziune 78—80°C. Randament 6 g.

Analiza: pentru $C_8H_6O_4NCl$

calculat:	C 44,55	H 2,78 %
găsit :	44,25	2,87 %
	44,05	2,44 %

2. Esterul metilic al acidului p-amino-o-clor-benzoic

Prin reducerea esterului metilic al acidului *p*-nitro-*o*-clor-benzoic cu clorură stanoasă și acid clorhidric se obține esterul metilic al acidului *p*-amino-*o*-clor-benzoic. Cristali aciculari, incolori, recristalizați din apă, punct de fuziune 104°C.

Analiza: pentru $C_8H_8O_2NCl$

calculat:	C 51,75	H 4,31 %
găsit :	51,48	4,15 %
	51,70	4,27 %

În mod analog s-au preparat și:

3. **Esterul metilic al acidului p-nitro-o-brom-benzoic**

Punct de fuziune 84°C.
Analiza: pentru $C_8H_6O_4NBr$

calculat:	C 36,93	H 2,30%
găsit :	37,22	2,49%
	37,17	2,50%

4. **Esterul metilic al acidului p-amino-o-brom-benzoic**

Punct de fuziune 94°C.
Analiza: pentru $C_8H_8O_2NBr$

calculat:	C 41,74	H 3,47%
găsit :	41,86	3,52%
	41,95	3,64%

5. **Esterul metilic al acidului p-nitro-o-iod-benzoic**

Punct de fuziune 88°C.
Analiza: pentru $C_8H_6O_4NI$

calculat:	C 31,27	H 1,95%
găsit :	31,31	2,17%
	31,58	2,07%

6. **Esterul metilic al acidului p-amino-o-iod-benzoic**

Punct de fuziune 120°C.
Analiza: pentru $C_8H_8O_2NI$

calculat:	C 34,65	H 2,88%
găsit :	34,93	3,17%
	34,87	2,80%

7. **Hidrazida acidului p-amino-o-clor-benzoic**

Peste 3 g ester metilic al acidului *p*-nitro-*o*-clor-benzoic se picură 3 g hidrat de hidrazină, răcindu-se la exterior, deoarece reacţia este violentă cu degajare gazoasă. Esterul se solvă în hidrazină, colorîndu-se în galben brun. Se continuă încălzind uşor pe baie de apă pînă ce produsul se solidifică în masă. Se adaugă puţin alcool, se filtrează, se recristalizează din alcool diluat. Cristali incolori, punct de fuziune 175°C.

O dată cu formarea hidrazinei are loc şi reducerea grupei $-NO_2$ din poziţia *para*. Repetînd aceeaşi operaţie cu *p*-amino-*o*-clor-benzoatul de metil, se obţine acelaşi produs, reacţia fiind mai puţin energică. Hidrazidele obţinute în ambele cazuri prezintă acelaşi punct de topire, amestecul lor nu arată nici o depresiune. Se prezintă în ace lungi, incolore, insolubile în benzen, eter, solubil în alcool, în apă la fierbere, în acid acetic. Randament 1,5 g.

Prin diazotare și cuplare cu naftol se formează un colorant portocaliu, dovadă că hidrazida conține o grupă aminică liberă în nucleu.
Analiza : pentru $C_7H_8ON_3Cl$

calculat :	N	22,64 %
găsit :		22,67 %
		22,68 %

Întrebuințînd o cantitate pe jumătate de hidrat de hidrazină s-a obținut un produs cristalin slab gălbui, punct de fuziune 152—160°C.
Analiza corespunde unui amestec de produse, probabil grupa nitrică s-a redus parțial.

8. Hidrazida acidului p-amino-o-brom-benzoic

Se lucrează în mod analog cu precedenta. Din 4 g ester metilic *p*-nitro-*o*-brom-benzoic s-au obținut 2 g hidrazidă pură. Cristalizată din alcool diluat se prezintă în ace incolore, strălucitoare, punct de fuziune 210°C. Insolubilă în eter, benzen, solubilă în apă la fierbere.
Analiza : pentru $C_7H_8ON_3Br$

calculat :	N	18,27 %
găsit :		18,19 %
		18,42 %

9. Hidrazida acidului p-nitro-benzoic

Încercînd prepararea hidrazidei acidului *p*-nitro-*o*-iod-benzoic s-a obținut un produs care nu mai conține iod. O dată cu formarea hidrazidei se reduce și iodul din poziția *orto*. Produsul format este incolor, greu solubil în alcool la cald, insolubil în eter, apă ; punct de fuziune 210°C. Analiza corespunde hidrazidei acidului *p*-nitro-benzoic.
Analiza : pentru $C_7H_7N_3O_3$

calculat :	N	23,20 %
găsit :		23,80 %
		24,02 %

10. p-Amino-o-clor-benzoil-hidrazona aldehidei salicilice

(Formula (V) în care X = Cl, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = H)

Se amestecă soluții alcoolice echimoleculare de hidrazidă și aldehidă salicilică. Amestecul se colorează în galben. Se fierbe pe baie de apă și la răcire, după cîteva ore, se separă cristali galbeni ; punct de fuziune 190°C. Greu solubilă în solvenții obișnuiți, solubili în alcool. Randament 1 g.
Analiza : pentru $C_{14}H_{12}O_2N_3Cl$

calculat :	N	14,50 %
găsit :		13,94 %
		14,08 %

11. p-Amino-o-clor-benzoil-hidrazona aldehidei benzoice

(Formula (V) în care X = Cl, R_1 = H, R_2 = H, R_3 = H)

Se prepară în mod analog. Hidrazona se prezintă în ace incolore, punct de fuziune 195°C, greu solubilă în solvenţi obişnuiţi.

Analiza: pentru $C_{14}H_{12}ON_3Cl$

calculat:	N	17,25%
găsit :		16,80%

12. p-Amino-o-clor-benzoil-hidrazona aldehidei m-oxi-benzoice

(Formula (V) în care X = Cl, R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H)

Se lucrează la fel ca precedenta. Substanţă incoloră, cristalină, punct de fuziune 226°C.

Analiza: pentru $C_{14}H_{12}O_2N_3Cl$

calculat:	N	14,50%
găsit :		13,94%
		13,93%

13. p-Amino-o-clor-benzoil-hidrazona aldehidei p-dimetilamino-benzoice

(Formula (V) în care X = Cl, R_1 = H, R_2 = H, R_3 = N $(CH_3)_2$)

Se prepară în mod analog.

Analiza: pentru $C_{16}H_{17}ON_4Cl$

calculat:	N	17,69%
găsit :		17,73%

14. p-Amino-o-clor-benzoil-hidrazona aldehidei p-acetilamino-benzoice

(Formula (V) în care X = Cl, R_1 = H, R_2 = H, R_3 = NH · CO · CH_3)

Cristali galben deschis, se topesc la 255°C. Greu solubili în solvenţii obişnuiţi.

Analiza: pentru $C_{16}H_{15}O_2N_4Cl$

calculat:	N	17,54%
găsit :		17,33%
		17,29%

15. p-Amino-o-brom-benzoil-hidrazona aldehidei salicilice

(Formula (V) în care X = Br, R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = H)

Cristali galben portocalii, punct de fuziune 215°C. Insolubilă în solvenţi obişnuiţi. Dă coloraţie roşie cu Cl_3Fe.

Analiza: pentru $C_{14}H_{12}O_2N_3Br$

calculat:	N	12,63%
găsit :		13,15%

16. **p-Amino-o-brom-benzoil-hidrazona aldehidei m-oxi-benzoice**

(Formula (V) în care X=Br, R_1=H, R_2=OH, R_3=H)

Cristali incolori, punct de fuziune 226°C.
Analiza: pentru $C_{14}H_{12}O_2N_3Br$

calculat:	N	12,63%
găsit :		12,47%
		12,42%

17. **p-Amino-o-brom-benzoil-hidrazona aldehidei p-dimetilamino-benzoice**

(Formula (V) în care X=Br, R_1=H, R_2=H, R_3=$N(CH_3)_2$)

Cristali slab gălbui, punct de fuziune 207° cu înroșire. Randament cantitativ.
Analiza: pentru $C_{16}H_{17}ON_4Br$

calculat:	N	15,50%
găsit :		15,30%

Institutul de chimie, Iași

Prezentat la redacție la 14 iulie 1955

ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ГИДРАЗИДОВ И ГИДРАЗОНОВ, ПРОИЗВОДНЫХ *p*-АМИНО-*o*-ГАЛОИДБЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В настоящей работе указан ряд новых эфиров, гидразидов и, гидразонов полученных на основе *p*-амино-*o*-галоидбензойных кислот. Эфиры обладают несколько меньшим противотуберкулезным действием, чем исходные кислоты тогда как гидразиды и гидразоны, хотя и весьма мало отличаются по строению от гидразида изоникотиновой кислоты, являются активными лишь при концентрации 10^{-3} мол/л, то есть обладают значительно меньшим противотуберкулезным действием, чем исходные кислоты.

L'ACTION ANTITUBERCULEUSE DE QUELQUES HYDRAZIDES ET HYDRAZONES DÉRIVÉES DES ACIDES *p*-AMINO-*o*-HALOGÉNOBENZOÏQUES

(RÉSUMÉ)

Les auteurs ont préparé des éthers, des hydrazides et des hydrazones dérivés des acides *p*-amino-*o*-halogénobenzoïques. Ces éthers ont une action antituberculeuse un peu plus faible que celle des acides correspondants, tandis que les hydrazides et les hydrazones, bien qu'ayant une

structure très peu différente de celle de l'hydrazide isonicotinique, agissent à peine à la concentration de 10^{-3} mol/l, donc beaucoup plus faible que celle des acides dont on est parti.

BIBLIOGRAFIE

1. W. AUMÜLLER, W. A. HORNER, J. KIMING, J. MEYER ROHN, Chem. Ber., **85**, 760 (1952).
2. K. A. JENSEN, K. G. ROSDAHL, H. INGVOREEN, Acta chem. scand., **2**, 220 (1948).
3. R. HIRT, H. HURNI, Helv. Chim. Acta, **32**, 378 (1949).
4. H. BENEDIKT, N. EIBL, M., **81**, 419 (1950).
5. C. V. GHEORGHIU, C. BUDEANU, El. BUDEANU, Acad. R.P.R., Bucureşti, Studii şi cercetări de chimie, **IV**, 163 (1953).
6. C. V. GHEORGHIU, C. BUDEANU, El. BUDEANU, A. TOMA, Acad. R.P.R., Bucureşti, Studii şi cercetări de chimie, **IV**, **169** (1953).
7. SCIUKINA, G. PERŞIN, O. MAKEEVA, E. SAGONOVA, E. NIKITSKAIA, A. IANINA, IAKOBLEVA, DAN., **84**, 983 (1952).
8. D. I. DRAIM, D. D. MARTIN, B. W. MITCHELL, J. Chem. Soc. (1949), 1498; C. A. **44**, 575 (1950).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

SCHIMBĂRILE PROPRIETĂŢILOR COLOIDALE ALE SOLURILOR DE LECITINĂ SUB ACŢIUNEA OXIGENULUI*)

DE

LADISLAU BALOGH

După cum am arătat în altă parte [1], schimbările stării coloidale a lecitinei se pot urmări bine pe baza determinării schimbării extincţiei solurilor ei cu ajutorul fotometrului Pulfrich. Este incontestabil, că mărirea hidrataţiei particulelor coloidale determină scăderea extincţiei, şi invers, scăderea hidrataţiei, respectiv a gradului de dispersiune, provoacă o mărire de extincţie.

Extincţia unui sol de 0,05% din lecitina de culoare deschisă, deci slab oxidată, determinată cu fotometrul Pulfrich în strat de 3 cm (filtru S 53, verde), în comparaţie cu apa distilată, este în jurul valorii de $E_3=1$, devierile depinzînd de circumstanţele preparării solului.

Substanţele greu permeabile, ca acizii, bazele şi sărurile minerale, precum şi numeroase substanţe organice, printre care glucoza şi glicocolul în concentraţii N/10, respectiv M/10, în cazul unor soluri proaspăt preparate în condiţiunile de mai sus, provoacă o mărire de extincţie între 0,5—1,0. Lecitina folosită a fost extrasă de autor din ou.

În cursul cercetărilor am observat că extincţia „*absolută*" a solului, din momentul preparării, suferă o scădere lentă, dar permanentă. Cu alte cuvinte, acest lucru înseamnă că solul de lecitină în contact cu aerul devine din ce în ce mai transparent. Gradul de dispersiune sau hidrataţia lecitinei se măresc, solubilitatea ei se accentuiază. Fenomenul se poate observa deja la cîteva ore după prepararea solului, iar peste o zi sau două, devine foarte pronunţat (o scădere de extincţie între 10 şi 20%). După 7—9 zile, solul — foarte opalescent la început—devine aproape transparent, exctincţia lui atingînd în mod practic un minim, adică 1/10 sau 1/20 din valoarea iniţială.

---

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 28 octombrie 1955.

Într-unul din cazurile observate, scăderea extincției unui sol de lecitină 0,05 % a decurs în felul următor:

La prepararea solului	E_3 = 1,223
După 24 ore	1,018
După 3 zile	0,670
După 7 zile	0,317
După 9 zile	0,102

În cursul acestei transformări, comportarea solului față de substanțe în dispersiune moleculară se schimbă fundamental. Acțiunea substanțelor, care provoacă o mărire a extincției prezintă o scădere apreciabilă paralel cu *îmbătrînirea* solului. Deosebit de interesant este felul în care se comportă un astfel de sol față de baze. Într-adevăr, tratînd un sol preparat de cîteva zile cu NaOH, Na_2CO_3 etc., în loc de o mărire a extincției, observată cu ocazia preparării solului, acum se constată o scădere considerabilă. În mod similar acționează ureea și uneori glicocolul. După adăugarea acestora, solul devine mai transparent. Acizii și sărurile minerale, care la început au provocat o mărire a extincției pînă la unitate, după 7—9 zile produc un efect de circa 100 ori mai mic. Este de remarcat că între scăderea extincției *absolute* și scăderea efectului substanțelor active nu există un paralelism exact. Scăderea acțiunii de precipitare în primele două zile a fost cu mult mai mică decît aceea a extincției absolute.

Tabloul nr. 1 reprezintă comportarea unui sol de lecitină 0,05% față de cîteva substanțe în dispersiune moleculară cu efect caracteristic.

Tabloul nr. 1

Schimbarea efectului exprimat în extincție a unor substanțe de dispersiune moleculară în funcție de timp, exercitat asupra unui sol de lecitină 0,05 % determinat cu fotometrul Pulfrich, în strat de 3 cm cu filtru S 53 (verde)

Substanța activă		La prepararea solului	Același sol după 4 zile	Același sol după 8 zile
Extincție absolută		1,353	0,638	0,088
NaOH	N/10	0,459	—0,549	—0,037
Na_2CO_3	„	0,401	—0,388	—0,048
NH_4OH	„	—0,252	—0,491	—0,057
HCl	„	0,725	0,218	0,019
NaCl	„	0,884	0,281	0,014
$CaCl_2$	„	0,801	0,288	0,014
Acid acetic	„	0,180	0,069	0,004
Glicerina	M/10	0,145	0,134	0,004
Glicocol	„	0,485	0,204	0,014
Carbamida	„	0,214	0,467	0,008
Glucoza	„	0,462	0,385	0,004

După cum reiese din tabloul nr. 1, schimbarea sensului acțiunii unor substanțe se remarcă cel mai pronunțat, în faza intermediară a *îmbătrînirii* solului. În faza finală a procesului de alterare, extincția solului este minimă și schimbările de extincție în raport cu aceasta sînt aproape neglijabile.

Solul de lecitină în contact mai îndelungat cu aerul, în afară de faptul că devine mai puțin opalescent și mai insensibil față de substanțe care provoacă mărirea extincției, mai suferă și alte schimbări. Astfel, solurile de lecitină nealterate 0,05%, proaspăt preparate, scuturate,

aproape nu produc spuma, respectiv spuma lor nu persistă. Din contra, solul de lecitină preparat de cîteva zile, în aceleași condițiuni, spumega abundent, producînd o spumă persistentă. Fenomenul dovedește că tensiunea superficială scade în timp.

Proprietățile solurilor de lecitină proaspăt preparate care au stat în contact cu aerul mai mulți ani, corespund în mare măsură proprietăților solurilor de lecitină proaspătă, dar vechi de cîteva zile, conform tabloului nr. 1. Chiar și culoarea închisă a lecitinelor vechi trădează că au trecut prin transformări fundamentale. Preparînd din aceste lecitine soluri de 0,05%, se observă o opalescență mult mai slabă ca la solurile de aceeași concentrație de lecitină nealterată.

Tabloul nr. 2 reprezintă comportarea unor soluri de lecitină 0,05% dintr-un preparat Merck și a unui Riedel—de Haën, ambele vechi de aproximativ 11 ani, față de aceleași substanțe de dispersiune moleculară ca în tabloul nr. 1.

Tabloul nr. 2.

Comportarea solului de lecitină Merck 0,05 %, respectiv Riedel—de Haën (vechi de 11 ani) față de substanțe de dispersiune moleculară. Extincții determinate cu fotometru Pulfrich; strat 3 cm, filtru S 53

Substanța activă		Preparat vechi Merck	Preparat vechi Riedel-de Haën
Extincție absolută		0,353	0,484
NaOH	N/10	—0,221	—0,287
Na_2CO_3	„	—0,182	—0,276
NH_4OH	„	—0,268	—0,340
HCl	„	0,025	0,021
NaCl	„	0,019	0,022
$CaCl_2$	„	0,098	0,035
Acid acetic	„	0,010	0,014
Glicerină	M/10	—0,002	0,031
Glicocol	„	—0,018	—0,164
Carbamidă	„	—0,213	—0,257
Glucoză	„	0,068	0,025

Comparînd datele din tablourile nr. 1 și 2, pare verosimil că cele două preparate de lecitină sînt ceva mai puțin alterate decît solul de lecitină nealterată la 8 zile după prepararea lui. Acțiunea negativă a ureei și a glicocolului, constatate la preparatele vechi Merck și Riedel—de Haën, se observă și în faza intermediară a alterării lecitinei în soluție. La sfîrșitul procesului de alterare, solurile devin însă atît de transparente, încît aceste efecte ies prea puțin în evidență prin determinări fotometrice.

Fenomenele observate în cursul alterării lecitinei atît *in substantia* cît și în soluție, am încercat la început să le explic printr-o hidroliză parțială. Creșterea considerabilă a hidrofiliei, precum și apariția unei solubilizări datorită bazelor s-ar putea într-adevăr interpreta prin formare de lisolecitină și apariția unui acid gras liber. Acest lucru ar putea explica pH-ul scăzut și acțiunea hemolitică a preparatelor vechi, respectiv a solurilor vechi, fapt relatat de L. Balogh și B. Barabás [2].

În cîteva zile pH-ul solurilor de lecitină nealterată scade de la valoarea inițială de 6—7, la 4 sau chiar mai puțin. Solurile preparatelor vechi au de asemenea un pH în jurul lui 4. Pe baza acestei explicații, în urma scindării acidului gras, ne-am aștepta la mărirea extincției solului. Se

constată totuşi contrariul, fapt ce s-ar putea explica prin hidrofilia pronunţată a lisolecitinei care, faţă de acidul gras pus în libertate, ar putea juca un rol de coloid protector. Cercetările ulterioare au dovedit însă că hidroliza nu joacă nici un rol, sau are cel mult un rol foarte redus în mărirea hidrofiliei lecitinei.

Cu aceeaşi lecitină de care m-am folosit la determinările ilustrate în tabloul nr. 1 am continuat cercetările după cîteva luni. Cu toate că preparatul a fost între timp conservat într-un exsicator cu $CaCl_2$, la frigorifer, am constatat totuşi progresarea alterării, ceea ce denotă scăderea extincţiei absolute a solului de lecitină 0,05%, precum şi valoarea scăzută a măririi de extincţie cauzată de NaOH N/10, şi anume :

	Extincţie absolută	Mărire de extincţie provocată de NaOH N/10
Cu ocazia determinării datelor tabloului nr. 1	1,353	0,459
După cîteva luni din aceeaşi substanţă	0,991	0,184

Concomitent cu cele de mai sus, cu o parte din sol s-a umplut complet un balon cotat, izolîndu-se dopul cu parafină pentru excluderea completă a aerului. O altă porţiune din acelaşi sol a fost lăsat timp de 7 zile în contact cu aerul. După scurgerea acestui timp, se constată că solul în contact cu aerul este aproape transparent, produce spumă abundentă, pe cînd cel izolat de aer continuă să fie puternic opalescent şi prin scuturare nu produce o spumă persistentă. Considerînd ca bază de comparaţie extincţia absolută, respectiv acţiunea modificatoare de extincţie a NaOH N/10, după 7 zile se constată următoarele abateri între cele două soluri :

	Sol de lecitină 0,05 % în contact cu aerul 7 zile	Acelaşi sol izolat de aer
Extincţie absolută	0,097	0,650
Mărire de extincţie provocată de NaOH N/10	−0,037	+0,119

Scăderea într-o măsură oarecare a extincţiei absolute şi a acţiunii hidroxidului de sodiu, în cazul solului izolat de aer, s-ar putea datori faptului că apa întrebuinţată la prepararea solului, nu a fost în prealabil dezoxigenată prin fierbere.

La începutul acestei experienţe, o a treia porţiune a solului a fost supusă timp de 5 ore la 65° unei barbotări cu oxigen. Drept control a servit acelaşi sol de lecitină izolat complet de aer şi menţinut tot atît la aceeaşi temperatură. La sfîrşitul experienţei, solul tratat cu oxigen este aproape complet transparent, pe cînd martorul îşi menţine opalescenţa. Drept măsură a schimbării suferite a servit şi în acest caz, variaţia extincţiei absolute, respectiv a efectului produs de NaOH, ca atare :

	Solul iniţial înainte de experienţă	Barbotat 5 ore la 65°C cu oxigen	Izolat de aer şi ţinut 5 ore la 65°C
Extincţie absolută	0,991	0,102	0,963
Mărire de extincţie provocată de NaOH N/10	0,184	−0,039	0,191

Din rezultatele experiențelor se vede clar că *mărirea hidrofiliei lecitinei se datorește nu hidrolizei, ci oxidării.* Ridicarea temperaturii accelerează procesul de îmbătrînire a lecitinei, dar pentru a decurge, și în acest caz este nevoie de prezența oxigenului. Constatarea de mai sus este confirmată și de următoarele:

Se hidrogenează lecitina dizolvată în alcool metilic, în prezența paladiului coloidal, „Hidrolecitina" obținută prin saturarea dublelor legături ale acizilor grași, spre deosebire de lecitina naturală, are un caracter pronunțat hidrofob. Cu apa se dispersează foarte greu, suspensia e de culoare albă, este netransparentă și, lăsată la aer mai mult timp, nu se clarifică și după un timp oarecare, se depune.

Experiența de mai sus dovedește indirect că lecitina leagă oxigenul molecular, în mod spontan, la legăturile duble ale acizilor grași (probabil prin legătura peroxidică). Se poate presupune că în molecula oxidată, hidrogenul din singurul grup hidroxilic liber al acidului fosforic devine mai disociabil, fapt care ar explica pH-ul scăzut al lectinei oxidate. Conform acestei concepții, acțiunea de solubilizare a bazelor, arătată mai sus, ar putea fi interpretată prin formarea unei sări din grupa acidului fosforic. Probabil că se formează sarea de sodiu a lecitinei oxidate, mai solubilă decît forma acidă.

Prezentat la redacție la 28 octombrie 1955

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛЛОИДНЫХ СВОЙСТВ ЗОЛЕЙ ЛЕЦИТИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КИСЛОРОДА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Из изложенных в работе исследований следует, что лецитин легко связывает самопроизвольно кислород, что вызывает коренные изменения в его коллоидальных свойствах. Окисление значительно увеличивает гидрофильность лецитина, что выражается повышением его растворимости. Поскольку лецитин является одним из главных компонентов клеточной оболочки, можно поставить вопрос, не вызывает ли увеличение его гидрофильности, путем окисления, возрастание клеточной проницаемости.

LE CHANGEMENT DES PROPRIÉTÉS COLLOÏDALES DES SOLS DE LÉCITHINE SOUS L'ACTION DE L'OXYGÈNE

(RÉSUMÉ)

L'auteur démontre que la lécithine fixe spontanément et avec facilité l'oxygène, ce qui conduit à des modifications fondamentales de ses propriétés colloïdales. L'oxydation augmente d'une manière considérable l'avidité de la lécithine pour l'eau, ce qui se traduit par une augmentation

de sa solubilité. La lécithine étant l'un des principaux constituants de la membrane cellulaire, on peut se demander si cet accroissement d'hydrophilie par oxydation n'a pas pour conséquence l'augmentation de la perméabilité cellulaire (3).

BIBLIOGRAFIE

1. BALOGH L., *Modificări în extincția solurilor de lecitină sub acțiunea unor substanțe molecular-disperse.* Lucrările primei Sesiuni științifice a I.M.F., Tg.-Mureș, 30 (1955).
2. BALOGH L., BARABÁS B., *Legătura între acțiunea hemolizantă și oxidația spontană a lecitinei.* Lucrările primei Sesiuni științifice a I.M.F., Tg.-Mureș, 33 (1955).
3. BALOGH L., SZABÓ E., SIMON I., *Conductibilitatea electrică a membranelor artificiale cu conținut lipidic.* Lucrările primei Sesiuni științifice a I.M.F. Tg.,-Mureș. 36 (1955).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

UN REACTIV PENTRU URMĂRIREA OXIDULUI DE CARBON ÎN AER

COMBINAŢIA DE ARGINT A ACIDULUI *p*-SULFONAMIDO-BENZOIC*)

DE

GHEORGHE CIUHANDU

Oxidul de carbon este un gaz foarte toxic.

Datorită afinităţii sale pentru hemoglobină, de vreo 220 de ori mai mare ca a oxigenului, oxidul de carbon se substituie acestuia, transformînd oxihemoglobina în carboxihemoglobină. Concentraţia de 0,2 % vol. CO în aerul respirat duce treptat la proporţia de 66% carboxihemoglobină în sînge, cauzînd moartea prin anoxemie şi apoi prin anoxie tisulară. Concentraţiile admise în atmosfera zonei de lucru a întreprinderilor industriale sînt cu mult mai mici (0,03—0,2 mg/l sau 0,0024—0,016 % vol.) [10].

Lipsit de culoare, de miros şi de gust, oxidul de carbon nu-şi semnalează prezenţa în aer, putînd determina pe neaşteptate intoxicaţii grave, cu evoluţie fulgerătoare. Riscurile de intoxicare sînt deosebit de mari în industria metalurgică în vecinătatea instalaţiilor de producere şi de manipulare a gazelor de furnal, de coxerie sau de generator, apoi în industria extractivă minieră, precum şi în locurile unde se acumulează gaze emise de motoarele cu explozie.

Reactivii utilizaţi pentru urmărirea oxidului de carbon în aer trebuie să fie suficient de *sensibili*, pentru a semnala prezenţa gazului cu mult sub concentraţia de 0,2% şi pe cît se poate *specifici*, întrucît oxidul de carbon este însoţit aproape întotdeauna de gaze străine, capabile să deranjeze reacţia de decelare (hidrogen, hidrocarburi, bioxid de sulf, hidrogen sulfurat etc.).

Un reactiv cunoscut de mult este clorura de paladiu [8] [46], ale cărei soluţii sînt reduse de oxidul de carbon cu separarea unui precipitat pulverulent negru de paladiu metalic

$$Pd^{++} + CO + H_2O \longrightarrow Pd + CO_2 + 2H^+$$

Prin adăugare de acetat de sodiu, ionii de hidrogen se leagă, iar reacţia cîştigă în sensibilitate [30]. Hîrtia de filtru impregnată cu o soluţie

*) Lucrare depusă la secretariatul Academiei R.P.R. la 5 iulie 1954.

de clorură de paladiu virează în brun sau negru într-o atmosferă cu oxid de carbon [9], [16], [32], [47]. Sensibilitatea decelării oxidului de carbon atinge 0,015% [1], [2]. Clorura de paladiu poate servi și la controlul permanent al aerului, cu ajutorul unui dispozitiv bazat pe înnegrirea unei hîrtii îmbibate cu o soluție paladoasă, într-un anumit interval de timp [45].

Clorura de paladiu nu este însă un reactiv specific pentru oxidul de carbon. Hidrogenul o reduce și el dacă este prezent în concentrație mai mare de 2%, iar etilena chiar la diluția de 6/10 000 [5]. Prin adăugare de sulfit de sodiu la sarea de paladiu, se obțin soluții insensibile la hidrogen [11]. Combinațiile nesaturate trebuie eliminate, în prealabil, din aerul de examinat, cu ajutorul acidului sulfuric concentrat saturat cu acid cromic sau cu apă de brom și alcalii.

Soluțiile de triclorură de aur sînt reduse și ele la rece de oxidul de carbon cu separare de aur coloidal, care le colorează în purpuriu [15], [33].

Anhidrida iodică reacționează cu oxidul de carbon [13]] reducîndu-se la iod elementar

$$J_2O_5 + 5CO \longrightarrow J_2 + 5CO_2$$

Oxidarea este cantitativă la cald, în cazul cantităților mici de oxid de carbon la 150°C. Aerul de examinat se conduce peste anhidridă iodică încălzită pe o baie de parafină. Oxidul de carbon poate fi identificat atît prin iodul separat, cît și prin bioxidul de carbon rezultat. Metoda a fost mult studiată, în special snb raportul dozării oxidului de carbon în aer [4], [20], [35], [41]. Limita sensibilității decelării gazului este 0,0005% [2]. Se semnalează însă, că și aerul complet lipsit de CO liberează urme de iod din anhidrida iodică [18], ceea ce impune prudență în cazul decelării urmelor minimale de gaz.

Suspendată în acid sulfuric fumans, anhidrida iodică oxidează și la rece CO, și după concentrația acestuia din urmă, suspensia se colorează în verde, albastru, brun sau negru [27], datorită unui produs de adiție între iodul separat și trioxidul de sulf. Acest produs încă este capabil să oxideze CO, pe seama tr.oxidului care se degradează la bioxid [43]. Sensibilitatea decelării variază între 0,02 și 0,07% [26], [38]. În comerț există detectoare construite pe acest principiu, care permit aprecierea concentrației CO în aer, între 0,01 și 0,05%. Exactitatea indicațiilor acestor detectoare a fost contestată [23].

În afară de CO, suspensia de anhidridă iodică în oleum reacționează și cu hidrogenul, etilena, acetilena, hidrogenul sulfurat, cu vapori de alcool, eter, benzen, benzină, cu hidrocarburi superioare, etc. [26] și chiar cu vaporii de apă, pierzîndu-și din sensibilitate. O oxidare oarecum selectivă a oxidului de carbon poate fi realizată cu o suspensie în oleum, cu maximum 10 % SO_3, care nu atacă nici hidrogenul, nici metanul [14], [38] și se pretează la depistarea oxidului de carbon în aer, cu condiția îndepărtării prealabile a celorlalte impurități reducătoare.

Decelarea oxidului de carbon poate fi de asemenea realizată, conducînd aerul de examinat, după o prealabilă purificare, peste amestecuri de oxizi metalici (Mn, Cu, Co, Ag), iar gazul poate fi decelat și chiar dozat prin ridicarea de temperatură rezultată în urma oxidării sale. Sensibilitatea decelării 0,002—0,01% CO [3], [19], [40]. Amestecul de oxizi

este cunoscut sub numele de hopcalită. Cei mai activi componenți sînt oxidul de argint și bioxidul de mangan, care oxidează CO chiar la temperatura ordinară; oxidul de cupru singur necesită circa 150°C pe cînd oxizii de cobalt sînt activi abia pe la 280°C [38].

Identificarea spectroscopică a carboxihemoglobinei într-o soluție apoasă de sînge prin care se barbotează aerul de examinat, oferă de asemenea posibilitatea de a depista CO în aer [36]. Metoda cîștigă în sensibilitate barbotînd aerul în prealabil printr-o soluție alcalină de hidrosulfit, care absoarbe oxigenul. Sensibilitatea depinde mult de condițiile de lucru și variază între 0,004 și 0,13 % CO [1], [22], [39].

O serie de combinații ale argintului sînt reduse de CO la argint metalic și unele din ele se pretează la decelarea și chiar la dozarea gazului în aer. Oxidul de argint este redus la temperatura ordinară [12], [21], [38] și poate servi la determinarea CO în amestec cu aerul [33] sau cu etilena și acetilena [7]. Soluția de nitrat de argint amoniacal este de asemenea redusă, mai ușor la slabă încălzire [6], iar în prezență de alcalii și la rece, permițînd decelarea gazului pînă la concentrația de 0,002%; hidrogenul, metanul, etilena și acetilena nu deranjează [24], [25], [28]. Tot atît de sensibilă este și soluția apoasă de nitrat de argint și metilamină [11], pe cînd soluțiile de nitrat de argint, piridină și alcalii sînt utilizate mai mult în scopuri cantitative [34] și nu se pretează la depistare [42]. Acțiunea reducătoare a oxidului de carbon se manifestă în aceste cazuri asupra unui cation complex de argint. Anionii puternic complexogeni (CN^-) împiedică separarea argintului; se pare că reacția este stînjenită și de alți anioni, fiind favorizată numai de ionii HO^- [44].

Proprietățile reactivilor menționați pînă aici, sînt cuprinse în tabloul nr. 1.

Tabloul nr. 1

Reactiv	Decelarea deranjată de	Sensibilitate %	Referințe
$PdCl_2$	H_2, C_2H_2, C_2H_4, SO_2, H_2S	0,015	[1], [2].
J_2O_5	H_2, C_2H_2, C_2H_4, SO_2, H_2S, hidrocarburi superioare, umiditate	0,0005	[2].
J_2O_5 + oleum 10 %	C_2H_2, C_2H_4, SO_2, H_2S, hidrocarburi superioare, umiditate	0,01 —0,07	[14], [26].
Hopcalita	H_2, H_2S, SO_2, hidrocarburi, umiditate	0,002—0,01	[3], [40]
Hemoglobină	O_2	0,004—0,13	[1], [44]. [22]
NO_3Ag + NH_4OH + NaOH	H_2S	0,002	[11].

Hemoglobina și sărurile de argint apar astfel ca reactivii cei mai caracteristici ai oxidului de carbon. Cîtă vreme însă, decelarea cu hemoglobină necesită o aparatură și condiții speciale, amestecurile de nitrat de argint și amoniac sau metilamină, avînd un component volatil, nu se bucură de stabilitate prea mare.

Era interesant de văzut, dacă sensibilitatea față de oxidul de carbon este o proprietate a cationilor complecși de argint, sau ea se manifestă și atunci cînd argintul este legat de un rest organic și dacă asemenea combinații se pretează la decelarea oxidului de carbon în aer. În această

ordine de idei, am ales pentru legarea argintului de restul organic substituirea unui atom de hidrogen dintr-un radical—$SO_2.NH_2$ și după cîteva încercări ne-am fixat la acidul *p*-sulfonamido-benzoic. *Soluția apoasă, alcalinizată, a combinației de argint a acestui acid, dă o intensă reacție de culoare cu oxidul de carbon.*

Sinteza și proprietățile combinației de argint a acidului *p*-sulfonamido-benzoic

Tratînd o soluție 0,1 M de *p*-sulfonamido-benzoat de sodiu cu un volum egal de nitrat de argint 0,1 M, se formează un precipitat alb, care prin alcalinizare cu hidroxid de sodiu se dizolvă complet. Acidulînd soluția rezultată cu acid acetic, precipită o pulbere cristalină, al cărei conținut de azot și de argint corespunde formulei $C_7H_6O_4NSAg$. O combinație asemănătoare a fost obținută tratînd acidul în soluție amoniacală cu nitrat de argint [37]. Combinația se dizolvă în alcalii, spre deosebire de sărurile corespunzătoare de argint (salicilat, benzoat) care precipită AgOH, de unde rezultă că în soluție alcalină argintul este legat nu la carboxil, ci la amidă și că soluția conține sarea de sodiu a unei combinații argento-sulfonamido-benzoice.

$$AgHN \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot COONa$$

Se dizolvă 2 g acid *p*-sulfonamido-benzoic în 20 cm^3 de NaOH N. Soluția se filtrează la nevoe, iar filtratul se tratează cu picătura și sub agitare, cu 100 cm^3 de NO_3Ag 0,1 M. Precipitatul rămas nesolvit se solubilizează cu un adaos de cîțiva cm^3 de NaOH N. Soluția limpede se acidulează cu 1,5 cm^3 acid acetic și se agită puternic. Precipitatul cristalin format se filtrează la trompă, se spală și se usucă în exsicator pe NaOH în vid, la întuneric. Combinația de argint a acidului *p*-sulfonamido-benzoic obținută este o pulbere cristalină, incoloră, care se colorează treptat la lumină.

Randament 2,8 g. Combinația este infuzibilă.

Analize			Găsit	Calculat
				$C_7H_6O_4NSAg$
$S = 5,93$ mg	$V = 0,236$ cm^3	$t = 23°C$ $p = 753$mm	N = 4,44 %	N = 4,55 %
$S = 6,955$ mg	$V' = 0,26$ cm^3	$t = 23°C$ $p = 754$mm	N = 4,18	—
$S = 0,6615$ g	NH_4SCN 0,1	N = 21,5 cm^3	Ag = 35,6 %	Ag = 35 %
$S = 0,6170$ g	NH_4SCN 0,1	N = 20 cm^3	Ag = 34,96	—

Soluțiile alcaline de argento-sulfonamino-benzoat de sodiu sînt reduse de oxidul de carbon, cu formare de argint coloidal; *acesta le colorează în nuanțe variabile, de la galben la brun intens.* Solurile rezultate sînt limpezi, practic lipsite de opalescență, pot fi diluate și sînt ușor colorimetrabile. Argintul este dispersat atît de fin, încît ele pot fi filtrate prin hîrtie de filtru (Schleicher, bandă albastră). Solurile sînt foarte stabile, deosebindu-se astfel esențial de suspensiile obținute prin reducerea nitratului de argint amoniacal. Culoarea solului este influențată de alcalinitatea mediului în care se petrece reducerea. Sensibilitatea este influențată favorabil de excesul alcalin.

Izolarea combinației de argint nu este obligatorie pentru prepararea soluțiilor necesare depistării; ele pot fi obținute extemporaneu din componentele următoare: nitrat de argint 0,1 M, sulfonamido-benzoat de sodiu 0,1 M, hidroxid de sodiu M.

Se amestecă un volum *p*-sulfonamido-benzoat de sodiu 0,1 M cu 1 volum nitrat de argint 0,1 M. Se scutură puternic; precipitatul voluminos la început devine cristalin. Se adaugă 0,5 vol. hidroxid de sodiu M și se agită. Se obține o soluție incoloră, care în prezența CO se colorează imediat.

Soluția alcalină de *p*-argento-sulfonamido-benzoat de sodiu este insensibilă față de o serie de gaze care însoțesc în general oxidul de carbon : hidrogen, metan, etilenă, acetilenă. Este absolut stabilă față de bioxidul de sulf și i se poate adăuga chiar sulfit, fără să se observe vreo alterare. Hidrogenul sulfurat o colorează în brun și apoi în negru (Ag_2S), de aceea, la urmărirea oxidului de carbon, hidrogenul sulfurat trebuie eliminat în prealabil prin spălarea aerului cu o soluție de acetat de plumb sau de hidroxid de sodiu.

Sărurile de hidrazină, hidrosulfitul de sodiu, hidrochinona, *p*-metilamino-fenolul, fenil-hidrazina, formaldehida, acetaldehida, reduc soluția cu formarea unei suspensii cenușii de argint fin divizat. Glucoza o reduce la cald, cu formare de oglindă de argint.

Față de reactivii de precipitare ai ionului Ag^+, soluția alcalină de argento-sulfonamido-benzoat se comportă diferit. Anionii J^-, Br^-, CN^-, SCN^- precipită imediat combinațiile respective insolubile, în timp ce anionii PO_4^{---}, CrO_4^{--}, HO^-, CO_3^{--} nu precipită. Anionul Cl^- precipită clorura de argint, însă ca o opalescență, respectiv suspensie fină, și nu sub forma precipitatului caracteristic.

Ionii HO^- împiedică precipitarea clorurii de argint. Cu cît soluția conține un exces mai mare de hidroxid, cu atît este necesară o cantitate mai mare de clorură pentru a determina apariția opalescenței de AgCl ; astfel, un amestec de 2 cm³ *p*-sulfonamido-benzoat de sodiu 0,1 M cu 2 cm³ nitrat de argint 0,1 M și 1 cm³ hidroxid de sodiu 5 M, suportă pînă la 3 cm³ NaCl 0,1 M fără să se opalizeze. Prin diluare însă, această soluție se opalizează și clorura de argint precipită treptat.

Fenomenul poate fi explicat prin echilibrul

$$AgHN \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot COO^- + H_2O \rightleftharpoons Ag^+ + HO^- + H_2N \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot COO^-,$$

care arată că formarea anionilor argento-sulfonamido-benzoici este limitată de hidroliza lor. Ionii HO^- retrogradează concentrația cationilor Ag^+ împiedicînd astfel precipitarea clorurii, în timp ce ionii Cl^- în exces, retrogradează solubilitatea AgCl și determină precipitarea ei și la o concentrație mai mică a cationilor. În sfîrșit, diluînd soluția ce conține o cantitate de NaCl insuficientă pentru precipitare, aceasta are loc treptat, în urma hidrolizei anionilor argento-sulfonamido-benzoici.

Este greu de precizat pentru moment, dacă oxidul de carbon acționează asupra anionilor argento-sulfonamido-benzoici sau a cationilor Ag^+, conform unei reacții de tipul

$$2Ag^+ + CO + 4HO^- \longrightarrow 2Ag + CO_3^{--} + 2H_2O,$$

deplasînd treptat echilibrul între anionii argento-sulfonamido-benzoici și cationii Ag^+ în favoarea acestora din urmă. În sprijinul acestei formulări însă, ar pleda faptul general că argintul legat strîns în anioni complecși (CN^-, $S_2O_3^{--}$) nu este redus de CO. Componenta sulfonamido-benzoică ar avea în acest caz rolul intermediar de a asigura coexistența ionilor HO^- și Ag^+ sub concentrația la care precipită hidroxidul, eliberînd în același timp ioni Ag^+ pe măsură ce aceștia sînt reduși de oxidul de carbon

Sensibilitatea decelării oxidului de carbon

Sensibilitatea reactivului a fost urmărită pe amestecuri de aer-gaz, mergînd de la 0,2% vol. CO în jos. Acestea au fost pregătite cu ajutorul aparaturii date în figura 1.

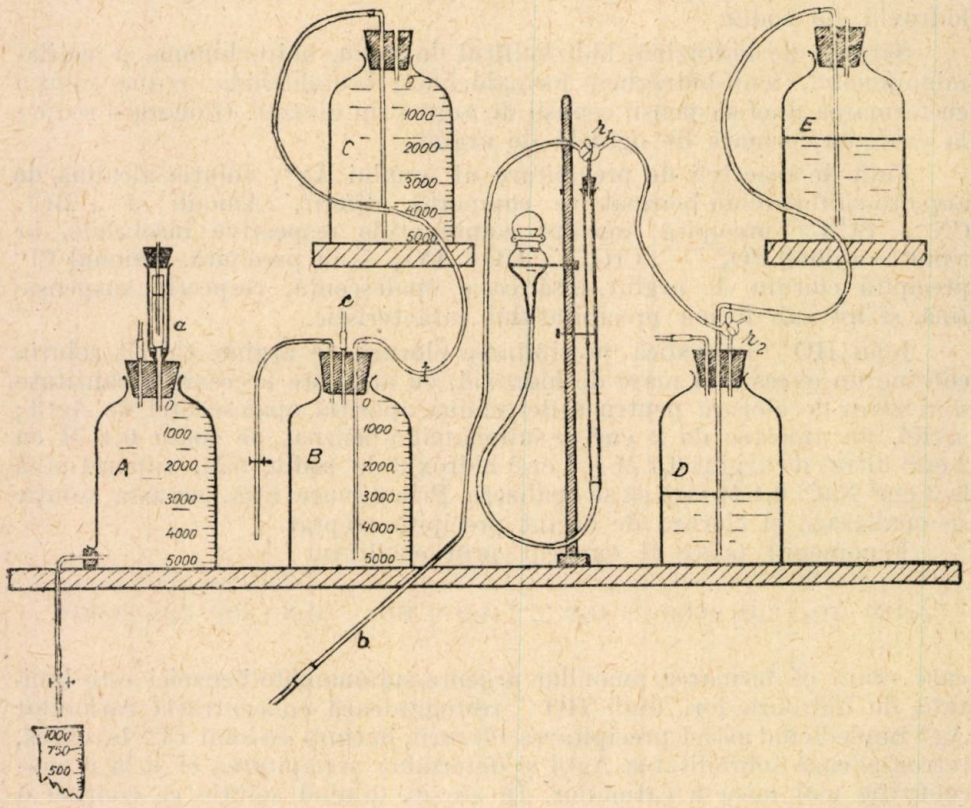


Fig. 1

Oxidul de carbon pur, preparat din acid formic şi acid sulfuric, este colectat în vasul *D*, din care, cu ajutorul a două robinete cu trei deschideri (r_1 şi r_2), gazul poate fi dirijat într-o biuretă pentru măsurare (25 cm³), sau evacuat printr-un tub de sticlă *b*, de dimensiuni potrivite (lungime 300 mm, diametru exterior 4 mm, diametru interior 1 mm). Gazul este manipulat pe soluţie saturată de sulfat de sodiu.

Amestecurile de aer-gaz au fost pregătite cu ajutorul a două vase de 5 litri fiecare (*B*, *C*), legate între ele printr-un tub de cauciuc ce funcţionează ca sifon. Una din sticle, gradată, este prevăzută cu un dop de cauciuc cu trei orificii (*B*). Printr-unul din ele trece un tub de sticlă pînă la fund, pentru sifonarea soluţiei de sulfat de sodiu. Al doilea poartă un tub scurt de sticlă *c*, servind ca orificiu pentru injectareă oxidului de carbon, diametru interior 5 mm. Al treilea orificiu serveşte la evacuarea amestecului gazos, printr-un tub de cauciuc.

Amestecurile de aer cu 0,2 şi 0,1% CO se obţin prin injectarea unui volum de 10, respectiv 5 cm³ CO pur prin orificiul *c*, cu ajutorul tubului *b*, care pătrunde pînă aproape de fundul sticlei. În acest scop se evacuează biureta în prealabil, aducînd lichidul, prin ridicarea parei de nivel, pînă la robinetul r_1. Reglînd apoi convenabil robinetele, se elimină aerul de pe conducte prin tubul *b*, cu un curent de CO din recipientul *D*; cînd aerul este complet eliminat, gazul arde liniştit la extremitatea tubului *b* cu o flacără albastră fără con interior. Se închide tubul cu un

segment de tub de cauciuc înfundat cu o scurtă baghetă şi se manevrează robinetul r_2, coborînd para de nivel; biureta se umple de gaz. Se închid robinetele r_1şi r_2 şi se citeşte nivelul lichidului din biuretă la aceeaşi înălţime cu cel din pară. Se ridică apoi para, corespunzător volumului de gaz de injectat şi se injectează repede gazul în vasul *B* (manevrînd robinetul r_1 după ce tubul *b* a fost introdus prin orificiul *c*),care apoi se închide. După şedere de 15—20 de minute, amestecul de aer-CO este omogen.

Amestecurile cu concentraţii mai mici de CO se realizează prin diluarea succesivă cu aer, a unui amestec iniţial cu 0,1 %CO, evacuînd o parte din el şi aspirînd la loc un volum egal de aer curat. Esenţial este ca întregul proces de pregătire a amestecurilor să aibă loc la temperatură constantă.

Sensibilitatea decelării oxidului de carbon în aer a fost urmărită atît prin barbotarea aerului de analizat prin soluţia reactiv, cît şi prin agitarea acesteia cu aerul în baloane de 1000 cm^3.

Barbotarea aerului a fost realizată cu ajutorul unui dispozitiv simplu *a* montat pe un vas gradat *A*. Dispozitivul constă dintr-o eprubetă exterioară, prelungită la partea inferioară printr-un tub. În interior se află o altă eprubetă, care se sprijină pe o rondea de plută perforată. Eprubeta exterioară poartă un dop de cauciuc prin care trece o capilară nu prea fină. Dimensiuni utilizate : eprubeta interioară 100 mm lungime, 10 mm diametru exterior; eprubeta exterioară 120 mm lungime, 12 mm diametru interior.

Vasul *A* se umple cu apă, iar la orificiul de scurgere se plasează un cilindru gradat. Soluţia indicatoare se introduce în eprubeta interioară a dispozitivului de barbotare. După racordarea vasului *B* la capilara dispozitivului de barbotare, se conduce amestecul gazos prin soluţia reactiv, reglînd astfel aspirarea şi evacuarea, ca volumele respective, citite pe sticla de nivel *C* şi pe vasul aspirator *A*, să fie tot timpul egale.

Cu această aparatură s-a urmărit sensibilitatea soluţiei reactiv în funcţie de *alcalinitatea* sa, prin barbotarea unui amestec de aer cu 0,1% CO. S-a constatat că în cazul reactivului preparat din

1 vol. *p*-sulfonamido-benzoat de sodiu 0,1 M,
1 vol. nitrat de argint 0,1 M,
0,5 vol. hidroxid de sodiu 0,1—10 M,

sensibilitatea creşte cu alcalinitatea soluţiei, concentraţia optimă a hidroxidului fiind cea molară.

Barbotînd aerul cu viteza de 10 cm^3/minut printr-o asemenea soluţie, pînă la observarea virajului ei în galben, oxidul de carbon poate fi depistat pînă la concentraţia de 0,001% vol., cu atît mai repede, cu cît se află în concentraţie mai mare. Cîteva rezultate sînt date în tabloul nr. 2.

Tabloul nr. 2

CO % vol.	Aerul barbotat	Timp de viraj	Observaţii
0,2	15	1—2 min	Moarte în 2—3 ore [17]
0,1	30	3 „	Intoxicaţie serioasă [17]
0,05	70	7 „	Tulburări generale grave [17]
0,025	160	16 „	
0,016	250	25 „	Limita superioară admisă [10]
0,01	350	35 „	Tulburări generale uşoare [17]
0,005	750	1^h15 „	
0,0025	1700	2^h50 „	Limita inferioară admisă [10]
0,001	4000	6^h40 „	

Rezultă astfel, că prin barbotarea aerului prin soluţia de argento-sulfonamido-benzoat de sodiu (1 vol. *p*-sulfonamido- benzoat de sodiu 0,1 M+1 vol. nitrat de argint 0,1 M+ 0,5 vol. hidroxid de sodiu M), oxidul

de carbon poate fi recunoscut în aer pînă la concentrația de 0,001%. Decelarea gazului are loc cu atît mai repede, cu cît concentrația lui este mai mare și în orice caz într-un timp mult mai scurt decît acela în care el ar putea determina intoxicații.

Tabloul nr. 3

CO % vol.	Timp de viraj
0,2	circa 10 secunde
0,1	30 „
0,05	1 minute
0,01	2 „
0,005	6 „
0,001	20 „
0,0001	circa 8 ore

Oxidul de carbon poate fi urmărit cu ajutorul noului reactiv și prin agitarea aerului de examinat cu soluția indicatoare. Agitînd 10 cm³ soluție în baloane Erlenmeyer de 1000 cm³ cu amestecuri de aer-CO, virajul în galben poate fi observat pînă la concentrația de 0,0001% vol. CO (tabloul nr. 3).

Concentrația oxidului de carbon în aer poate fi astfel apreciată după timpul necesar observării virajului.

Aplicații practice

Un vas aspirator cu apă de dimensiuni convenabile, avînd montat pe el dispozitivul de barbotare, poate servi la controlul permanent al aerului, în locurile unde eventuale scăpări de gaze pot determina pe neașteptate creșterea concentrației de oxid de carbon în aer. La viteza de 10 cm³/minut, un vas de 5 litri are capacitate suficientă pentru a asigura circularea aerului prin soluția indicatoare timp de opt ore.

În absența oxidului de carbon, soluția indicatoare rămîne incoloră; în prezența de mici cantități se îngălbenește, iar atunci cînd gazul se află în concentrație mare, soluția virează repede în brun.

În caz că aerul cuprinde și H_2S, se montează înaintea dispozitivului un mic vas spălător cu KOH 20%.

Această aparatură este avantajoasă pentru simplicitatea sa și este susceptibilă de perfecționare.

Laboratorul de toxicologie.
Institutul de igienă, Timișoara

Prezentat la redacție la 10 octombrie 1955

РЕАКТИВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ОКИСИ УГЛЕРОДА В ВОЗДУХЕ — СЕРЕБРЯНОЕ СОЕДИНЕНИЕ -СУЛЬФОНАМИДОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Щелочной раствор серебряного соединения сульфонамидобензойной кислоты может с успехом служить для выявления окиси углерода в воздухе, посредством интенсивной цветной реакции, принимая окраску от желтого до чернокоричневого цвета, вследствие образования золя серебра. Полученные золи устойчивы, практически лишены опалесценции, могут быть отфильтрованы и разбавлены без потери устойчивости.

Реакция является специфической для окиси углерода и не подвержена влиянию водорода, ацетилена, этилена, двуокиси серы. Только сероводород оказывает на нее влияние, осаждая сернистое серебро; поэтому он должен быть предварительно удален. Обычные восстановители вызывают образование не золей, а лишь серых суспенсий серебра.

На основе поведения раствора аргентосульфонамидобензоата натрия по отношению к реактивам осаждения катиона Ag^+, устанавливается существование равновесия:

$$AgHN \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot COO^- + H_2O \rightleftarrows Ag^+ + HO^- + H_2N \cdot SO_2 \cdot C_6H_4 \cdot COO^-.$$

Действие окиси углерода формулируется следующим образом:

$$2\,Ag^+ + CO + 4\,HO^- \rightarrow 2\,Ag + CO_3^{--} + 2\,H_2O.$$

Индикаторный раствор для идентификации окиси углерода приготовляется extemporе из следующих компонентов:

1 объем *p*-сульфонамидобензоата натрия 0,1 моля;
1 объем азотнокислого серебра 0,1 моля;
0,5 объема едкого натрия м.

Пропуская исследуемый воздух через индикаторный раствор, можно распознать окись углерода до концентрации 0,001%.

Взбалтыванием индикаторного раствора с воздухом в литровых колбах окись углерода может быть выявлена до концентрации 0,0001%, а время, необходимое для наблюдения изменения цвета в желтый, может служить для определения концентрации газа.

При помощи весьма простого приспособления можно осуществить постоянный контроль воздуха, основанный на пропускании этого последнего через раствор аргентосульфонамидобензоата натрия.

UN RÉACTIF QUI PERMET DE DÉCELER L'OXYDE DE CARBONE DANS L'AIR

LA COMBINAISON D'ARGENT DE L'ACIDE *p*-SULFONAMIDO-BENZOÏQUE

(RÉSUMÉ)

La solution alcaline de la combinaison d'argent de l'acide *p*-sulfonamido-benzoïque peut servir avec succès à déceler l'oxyde de carbone dans l'air, par une intense réaction de couleur allant du jaune au noir-brun, due à la formation d'un sol d'argent. Les sols qui en résultent sont stables, pratiquement sans opalescence, et peuvent être filtrés et dilués sans que leur stabilité soit altérée.

La réaction est spécifique de l'oxyde de carbone et n'est pas influencée par l'hydrogène, l'acétylène, l'éthylène et l'anhydride sulfureux. Seul l'hydrogène sulfuré la dérange en précipitant le sulfure d'argent; c'est pourquoi on doit l'éliminer au préalable. Les réducteurs habituels ne produisent pas des sols, mais des suspensions grisâtres d'argent.

Se fondant sur la manière dont la solution d'argento-sulfonamido-benzoate de sodium se comporte avec les réactifs de précipitation du cation Ag +, l'auteur établit l'existence d'un équilibre :

$$Ag\,HN\cdot SO_2\cdot C_6H_4\cdot COO^- + H_2O \rightleftharpoons Ag^+ + HO^- + H_2N\cdot SO_2\cdot C_6H_4\cdot COO^-.$$

L'action de l'oxyde de carbone peut s'écrire

$$2\,Ag^+ + CO + 4\,HO^- \longrightarrow 2\,Ag + CO_3^{--} + 2\,H_2O.$$

La solution indicatrice pour déceler l'oxyde de carbone est préparée *ex tempore* de la manière suivante :

1 volume *p*-sulfonamido-benzoate de sodium 0,1 M;
1 volume de nitrate d'argent 0,1 M;
0,5 volume d'hydroxyde de sodium M.

En faisant passer l'air à examiner à travers cette solution, l'oxyde de carbone peut être décelé jusqu'à la concentration de 0,001%.

En agitant la solution indicatrice avec l'air, dans des ballons d'un litre, l'oxyde de carbone peut être décelé jusqu'à la concentration de 0,0001%, et, par le temps nécessaire à l'observation du virage au jaune, on peut également apprécier la concentration du gaz.

Un dispositif très simple permet de réaliser un contrôle permanent de l'air, en faisant barboter l'air à travers la solution ci-dessus.

BIBLIOGRAFIE

1. ACKERMANN W., Chem Ztg., **57**, 154 (1933); C., (1933), **I**, 3107.
2. AMBLER H. R., SUTTON T. C., Nature, **131**, 766 (1933); C., (1933), **II**, 417.
3. ASSEIEV A. I., Zavod. Labor., **7**, 944 (1940).
4. ASTAPENIA A., VAPNIK I. N. SELKIN N. D., Jurn Obs. Him., **3**, 839 (1933).
5. BAYER F., *Gasanalyse*. Berlin, 1941, 115—116.
6. BERTHELOT M., Bull. Soc. Chim. France, **3**, *5*, 369 (1891).
7. BLACET F. E., Mc. DONALD G. D., LEIGHTON PH. A., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., **5**, 272 (1933); C., (1934), **I**, 3371.
8. BOTGER J., Jahresber. d. Physik, 16 (1857); C., 1859, 321.
9. BRUNCK O., Z. analyt. Chem., **54**, 509 (1915).
10. *** Bul. Min. Săn., **16**, 643 (1952).
11. DALJER W., Z. analyt. Chem., **103**, 83 (1935).
12. DEJUST H., C. R. Acad. Sci. Paris, **140**, 1250 (1905).
13. DITTE A., Bull. Soc. Chim France, **2**, *13*, 318 (1870); C. (1870), 446,.
14. DITTRICH E., Z. angew, Chem., **43**, 979 (1930).
15. DONAU J., Monatsh., **26**, 525 (1905); C., (1905), **II**, 21.
16. — Monatsh., **27**, 71 (1906).
17. FABRE R., *Leçons de toxicologie*. Paris, 1935, **III**.
18. FISCHINGER O., Z. analyt. Chem., **104**, 427 (1936)..
19. FREVERT H. W., FRANCIS E. H., Z. analyt. Chem., **101**, 422 (1935).
20. GAUTHIER A., C. R. Acad. Sci. Paris, **126**, 793 (1898).
21. — C. R. Acad. Sci. Paris, **126**, 871 (1898).
22. HARTRIDGE H., Nature, **131**, 654 (1933); C., (1933), **II**, 1556.
23. HOFFMANN E., Z. analyt. Chem., **104**, 427 (1936).
24. KAST H., SCHMIDT A., Gas. Wasser., **70**, 821 (1927).
25. KAST H., SELLE H., Glückauf, **62**, 804 (1926); C., (1926), **II**, 1552; Gas. Wasser., **69**, 812 (1926); C., (1927), **I**, 325; Z. analyt. Chem. **75**, 44 (1928).
26. KATZ S. H., BLOOMFIELD J. J., Ind. Eng. Chem., **14**, 304 (1922); C., (1922), **IV**, 615.
27. LAMB A. B., BRAY W. C., FRAZER J. C. W., Ind. Eng. Chem., **12**, 213 (1920); C., (1920), **IV**, 640.
28. LANGE B., *Analyse colorimétrique*. Paris, 1947.

29. LAZAREV N. V., *Substanțe chimice nocive în industrie.* București, 1951, **I.**
30. LJUGGREEN G., Brev. engl. 341. 269, 1930; C., (1931), **I**, 2093.
31. MANCHOT W., GALL H., Ber., **59**, 2175 (1926); C., (1926), **I**, 611.
32. MANCHOT W., KÖNIG K., Ber. **59**, 883 (1926); C., 1926, **I**, 612.
33. MANCHOT W., LEHMANN G., Ber., **64**, 1261 (1931); C., 1931, **II**, 1929.
34. MANCHOT W., SCHERER O., Ber., **60**, 326 (1927); C., (1927), **I**, 1710.
35. NICLOUX M., C. R. Acad. Sci. Paris. **126**, 746 (1898).
36. — Bull. Soc. Chim. France, *4*, *13*, 770, 947 (1913).
37. NOYES W. A., Am Chem., J., **8**, 176 (1886); C., (1887), 62.
38. PIETERS H. A. I., Chem, Weekbl., **28**, 335 (1931); C., (1931), **II**, 116; Z. analyt., Chem., **85**, 50 (1931); C., (1931), **II**, 2759; Z., analyt. Chem., **85**, 113 (1931).
39. PIETERS H. A. I., PENNERS K., C., (1938), **II**, 2975.
40. PONOMARENKO S. N., GORNY J., **111**, 10, 15 (1935); C., (1936), **I**, 4946
41. ROMAȘCENKO V. A., Zavod. Labor., **9**, 912 (1940).
42. SAPADINSKI M. B., LEONOV S. V., J. chim. promișlen., **6**, 1273 (1929).
43. SCHLÄPFER P., MOSCA C., C., (1933), **I**, 268.
44. STAUFER R., Brev. austr. 126.221, 1932; C. (1932), **I**, 1277.
45. SUNDBERG T., LJUNGHOLM E., C., (1933), **I**, 268.
46. WINKLER CL., Z. analyt. Chem., **20**, 269 (1889).
47. WINKLER L. W., Z. analyt. Chem., **97**, 18 (1934).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

DESPRE STEROIDE (VIII)

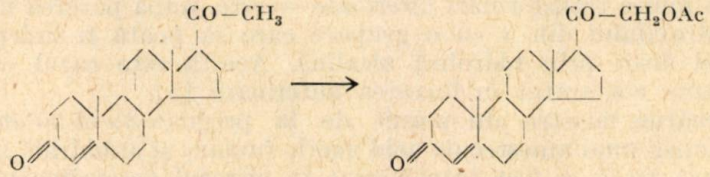
CONTRIBUŢII LA SINTEZA ACETATULUI DEZOXICORTICOSTERONEI *)

DE

ACADEMICIAN I. TĂNĂSESCU, F. HODOŞAN şi I. JUDE

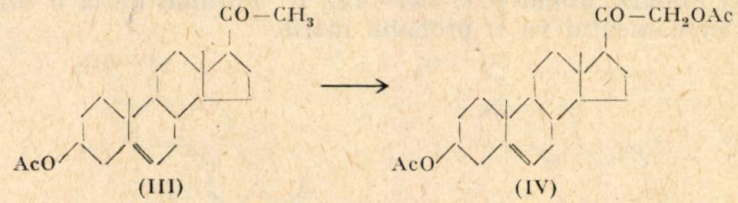
O problemă importantă, sintetică, pentru obţinerea hormonilor din capsulele suprarenale este transformarea catenei —CO—CH_3, caracteristica hormonului din *corpus luteum*— progesterona—, în catena hidroxicetonică —CO—CH_2OH.

Cea mai simplă rezolvare a acestei probleme a oferit-o reacţia cu tetraacetat de plumb, care reacţionează cu uşurinţă cu cetonele α-metilate transformîndu-le în α-acetoxicetone. Metoda aceasta, atît de simplă, nu dă însă totdeauna rezultate satisfăcătoare. Astfel, G. Ehrhardt şi colaboratori [1] au publicat o metodă de trecere de la progesterona (I) la acetatul de dezoxicorticosteronă (II), utilizînd tetraacetatul de plumb. Mai tîrziu însă, T. Reichstein şi C. Montigel [2] au demonstrat că în această reacţie nu se formează decît urme de acetat de dezoxicorticosteronă (II), aşa încît calea urmată de Ehrhardt [1] nu are nici o valoare preparativă.



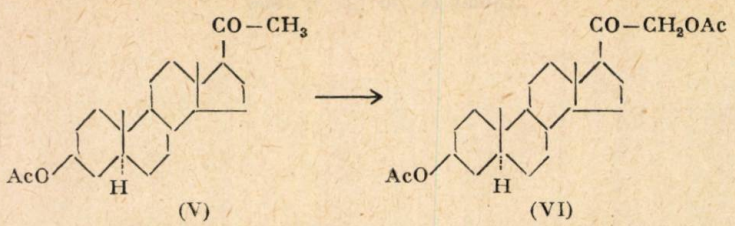
(I) (II)

Rezultate cu mult mai bune s-au obţinut pornind de la 3β-acetoxi-Δ^5-pregnen-20-on (III) şi de la 3β-acetoxi-allopregnan-20-on (V) [2]:



(III) (IV)

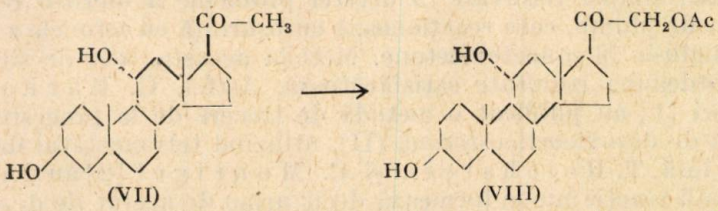
*) Lucrare prezentată în Sesiunea Filialei Cluj din 18—21 decembrie 1954.



(V) (VI)

Cu toate că în aceste sinteze 21-acetoxi-derivații (IV) și (VI) se formează cu randamente bune (în jur de 50%), metoda pierde foarte mult din valoarea ei preparativă prin faptul că se formează substanțe avînd ambii hidroxili din 3 și 21 acetilați. Într-adevăr, pentru a realiza fazele următoare de trecere la acetatul de dezoxicorticosterona (II), sau la derivați analogi, este nevoie ca hidroxilul din poziția 3 să fie liber iar cel din poziția 21 să fie protejat. Aceasta nu se poate realiza printr-o simplă hidroliză selectivă, căci în acest caz se hidrolizează în primul rînd hidroxilul din poziția 21. Calea spre dezoxicorticosteronă necesită astfel o serie de transformări suplimentare [3].

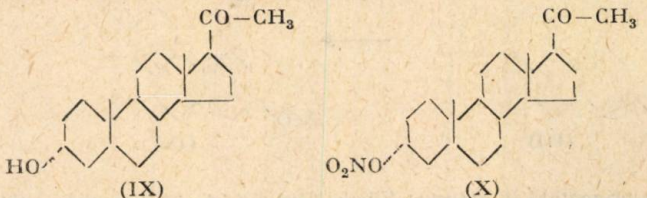
O reacție cu tetraacetat de plumb în care hidroxilul din 3 rămîne liber a fost executată de J. Euw, A. Lardon și T. Reichstein [4] pornind de la 3β, 11α-dihidroxipregnan-20-on (VII). Reacția a fost executată în condiții blînde, în mediu de acid acetic cu un conținut de 1—2% apă. S-a obținut derivatul acetoxilat în 21 (VIII), însă cu randamente mici, în jur de 27%:



(VII) (VIII)

Una din rezolvările problemei sintetice expuse mai sus — deci găsirea unei modalități de aplicare a reacției cu tetraacetat de plumb, care să nu necesite prea multe transformări ulterioare — este, după părerea noastră, mascarea hidroxilului din 3 cu o grupare care să poată fi îndepărtată ulterior altfel decît prin hidroliză alcalină. Acesta este cazul esterilor nitrici, așa cum s-a arătat în lucrarea anterioară [5].

În încercările noastre am pornit de la pregnan-3α-ol-20-on (IX), care sub acțiunea unui amestec de acid azotic fumans și anhidridă acetică, la temperatură joasă, a fost transformat în nitratul corespunzător (X), p. t. 129—130° C, $[\alpha]_D = +105°$ (în cloroform). Randamentul reacției este de 75—80%. Este de remarcat că în această reacție am pornit de la substanța (IX) impură, avînd p. t. 144—147° C. Pornind de la o substanță mai pură, randamentul va fi probabil mărit.



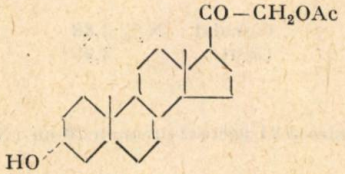
(IX) (X)

S-a supus apoi nitratul (X) obținut în reacția precedentă acțiunii tetraacetatului de plumb. Lucrînd cu un mare exces de reactiv, la temperatură relativ joasă și prin prelucrarea amestecului de reacție, s-a obținut o masă sticloasă, transparentă, care n-a putut fi purificată ca atare.

S-a renunțat atunci la încercările de purificare și s-a tratat masa brută cu pulbere de zinc în acid acetic glacial, punîndu-se astfel în libertate hidroxilul din poziția 3. Prelucrînd amestecul de reacție s-a obținut o masă cristalină, gălbuie. Din aceasta, prin diferență de solubilitate într-un amestec de benzen și benzină ușoară, s-au izolat două substanțe:

O fracțiune foarte greu solubilă, care după repetate recristalizări din benzen-dioxan are p. t. 245—255 °C (cu descompunere) și $[\alpha]_D = +31°$ (în dioxan). Substanța nu este indicată în literatură, iar constituția ei este în curs de cercetare.

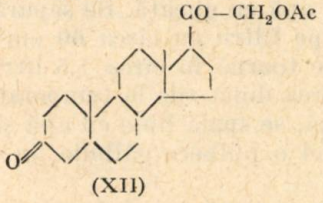
Fracțiunea mai ușor solubilă în benzen-benzină, după purificare din metanol apos, a dat 3α-hidroxi-21-acetoxi-pregnan-20-on (XI), în stare nu tocmai pură, cu p. t. 170—175°C (randament = 35—40%). Prin recristalizări repetate s-a putut ajunge la p. t. 175—177°. Observăm că pentru prelucrarea mai departe a substanței (XI) nu este nevoie de o purificare prea avansată.



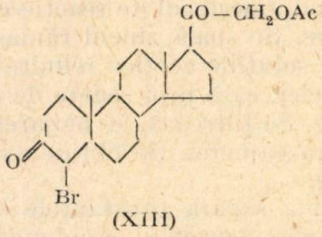
(XI)

Prin oxidarea substanței (XI), cu acid cromic în acid acetic glacial [6], s-a obținut 21-acetoxi-pregnan-3,20-diona (XII), cu p. t. 145—148°C, foarte apropiat de cel indicat în literatură [6]. Randamentul oxidării este de 70—73%.

Bromurarea substanței (XII) în acid acetic glacial cu cantitatea teoretică de brom [6] a dat naștere la bromderivatul (XIII), cu un randament de 55—60%. Substanța a fost purificată din mult metanol și are p. t. 177—178°C



(XII)



(XIII)

În ultima etapă a sintezei s-a realizat eliminarea unei molecule de acid bromhidric din bromderivatul (XIII), după metoda generală dată de V. R. Mattox și E. C. Kendall [7], și anume, prin încălzirea substanței (XIII) cu clorhidrat de semicarbazidă și acetat de sodiu în acid acetic, urmată de scindarea semicarbazonei formate, cu ajutorul acidului piruvic. S-a obținut astfel acetatul de dezoxicorticosteronă (II) cu p. t. 157—159 °C. Executînd reacția cu grijă se pot realiza în această fază randamente de 55—60%.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Nitratul 3α-hidroxi-pregnan-20-on (X)

Într-un amestec de 30 cm³ anhidridă acetică și 7,5 cm³ acid azotic ($D = 1{,}52$), răcit la — 5° C, se picură, cu agitare, o soluție de 3 g 3α-hidroxi-pregnan-20-on (IX) (p. t. 144—147 °C) în 30 cm³ cloroform. Adăugarea durează circa 10 minute. Se continuă apoi agitarea încă 5 minute. Temperatura se menține în tot timpul reacției în jur de — 5 °C. Se toarnă apoi soluția cloroformică în multă apă cu gheață. Se separă stratul cloroformic într-o pîlnie de separare și se spală mai întîi cu o soluție de bicarbonat de sodiu și apoi cu apă. Se usucă soluția cloroformică cu sulfat de sodiu anhidru și se evaporă la sec, la temperatura camerei. Reziduul cristalin se recristalizează de două ori din alcool metilic. Ace lungi, strălucitoare, cu p. t. 129—130 °C. $[\alpha]_D = + 105°$ ($c = 1{,}297$; în cloroform). Randament 75—80%.

Analiza $C_{21}H_{33}O_4N$

Calculat : N % 3,88
Găsit : 3,95

3α-Hidroxi-21-acetoxi-pregnan-20-on (XI)

Se dizolvă 4 g nitrat (X) în 90 cm³ acid acetic glacial și se adaugă 2,5 cm³ anhidridă acetică. Se introduc apoi treptat 12 g tetraacetat de plumb, în porțiuni de cîte 2 g, adăugate la intervale de cîte 6 ore. Temperatura este menținută în timpul reacției la 55 °C. Reacția durează în total 60 ore. Soluția acetică se toarnă apoi în multă apă și se extrage cu eter. Reziduul obținut prin evaporarea soluției eterice se dizolvă în 100 cm³ acid acetic glacial și se adaugă, cu agitare puternică, în porțiuni mici, 10 g pulbere de zinc. Adăugarea durează 40—45 minute. Se continuă agitarea încă o oră. În tot timpul reacției temperatura se menține sub 20 °C, răcind amestecul de reacție cu apă cu gheață. Se separă apoi zincul prin filtrare. Se spală zincul rămas pe filtru cu circa 60 cm³ acid acetic glacial, iar soluțiile acetice reunite se toarnă în circa 1,5 litri de apă. Se separă un clei, care prin ședere de circa două zile la temperatura camerei se întărește. Se filtrează, se mojarează, se spală bine cu apă și se usucă la temperatura camerei. Se obține astfel o pulbere gălbuie, în cantitate de circa 3,7 g.

Pentru a separa substanțele din această masă brută, se dizolvă la rece în 32 cm³ benzen și se adaugă 28 cm³ benzină ușoară (50—60°). Se lasă să stea la temperatura camerei timp de 24 ore, într-un vas închis. Precipitatul depus se filtrează, se spală cu un amestec de benzen și benzină ușoară (50—60°) și se recristalizează de două ori din dioxan-benzen (1 : 1). Se obține o substanță albă, cristalizată în ace fine, cu p. t. 254—256 °C, $[\alpha]_D = + 31°$ ($c = 0{,}49$; în dioxan) (constituția substanței nu a fost încă determinată).

Soluția de benzen-benzină, din care s-a separat substanța de mai sus, se evaporă la sec, la temperatura camerei. Se obține o masă cristalină,

aproape albă, impregnată cu un clei gălbui. După o recristalizare din alcool metilic 80% și apoi din acetonă-benzină (50—60°), se obține 3 α-hidroxi-21-acetoxi-pregnan-20-on (XI) cu p. t. 170—175 °C. Randament 35—40%. După repetate recristalizări din solvenții indicați mai sus, se ajunge la p. t. 175—177°, $[\alpha]_D = +101°$ ($c = 1,222$; în cloroform).

Analiza $C_{23}H_{36}O_4$

Calculat: C% 73,36; H% 9,59
Găsit: 73,68; 9,85

21-Acetoxi-pregnan-3,20-dion (XII)

Se oxidează substanța (XI) cu acid cromic, conform indicațiilor din literatură [6]. P. t. 145—148 °C. Randament 70—73%.

21-Acetoxi-4-brom-pregnan-3,20-dion (XIII)

Se bromurează substanța (XII) cu brom în soluție de acid acetic glacial, în condițiile date în literatură [6]. Prin recristalizare din mult alcool metilic se obține bromderivatul (XIII), cu p. t. 177—178 °C, cristalizat în ace foarte mărunte, albe. Randament 55—60%.

21-Acetoxi-Δ^4-pregnan-3,20-dion (II)

Se dizolvă 320 mg bromderivat (XIII) în 58 cm³ acid acetic glacial și se adaugă o soluție de 240 mg clorhidrat de semicarbazidă și 240 mg acetat de sodiu anhidru în 2 cm³ apă. Se încălzește timp de 2 ore la 70 °C, în atmosferă de CO_2. După acest timp se adaugă o soluție de 3,5 cm³ acid piruvic în 7,5 cm³ apă și se continuă încălzirea încă 2 ore la 70 °C, în atmosferă de CO_2. Se diluează apoi soluția cu de cinci ori atîta apă și se extrage de mai de multe ori cu eter. Soluțiile eterice se spală mai întîi cu o soluție diluată de bicarbonat de sodiu, apoi cu apă și se usucă cu sulfat de sodiu anhidru. Substanța rămasă după evaporarea eterului se recristalizează de cîteva ori din acetona-benzină (50—60°) și în cele din urmă din alcool metilic apos. Se obține astfel acetatul de dezoxicorticosteronă (II) cristalizată în ace fine, cu p. t. 157—159 °C. Randament 55—60%.

Analiza $C_{23}H_{32}O_4$

Calculat: C% 74,35; H% 8,60
Găsit: 74,43; 8,14

Institutul de chimie al Academiei R.P.R., Filiala Cluj

Prezentat la redacție la 19 decembrie 1955

О СТЕРОИДАХ VIII

К ВОПРОСУ О СИНТЕЗЕ УКСУСНОКИСЛОГО ДЕЗОКСИКОРТИКОСТЕРОНА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Исходя из прегнана-3 α-ол-20-он (IX), авторы синтезировали соответствующий нитрат (X).

Под действием тетрауксуснокислого свинца на нитрат (X) получается масса, которая, будучи обработана цинковым порошком в ледяной уксусной кислоте, переходит в 3 α-гидрокси-21-ацетокси-прегнан-20-он (XI), наряду с веществом, еще невыясненного состава. Путем окисления соединения (XI) был получен 21-ацетоксипрегнан-3,20-дион (XII), из которого можно получить общеизвестными методами уксуснокислый дезоксикортикостерон (II).

SUR LES STÉROÏDES (VIII).

CONTRIBUTION À LA SYNTHÈSE DE L'ACÉTATE DE LA DÉSOXYCORTICOSTÉRONE

(RÉSUMÉ)

En partant de prégnon-3 α-ol-20-on (IX), on a fait la synthèse du nitrate correspondant (X).

Par l'action du tétra-acétate de plomb sur le nitrate (X), on obtient une masse brute qui, sous l'action de la poudre de zinc dans l'acide acétique glacial, se transforme en 3 α-hydroxy-21-acétoxy-prégnan-20-on (XI) et l'on obtient en même temps un produit dont la constitution n'a pas encore été déterminée.

En oxydant le produit (XI), on a obtenu le 21-acétoxy-prégnon-3,20-dion (XII) qui fournit, par les méthodes connues, l'acétate de désoxycorticostérone (II).

BIBLIOGRAFIE

1. G. EHRHARDT, H. RUSCHIG, W. AUMÜLLER, Angew. Chem., **52**, 363 (199).
2. T. REICHSTEIN, C. MONTIGEL, Helv. Chim. Acta, **22**, 1212 (1939).
3. F. GIRAL, J. Amer. Chem. Soc., **72**, 1913 (1950).
4. J. EUW, A. LARDON, T. REICHSTEIN, Helv. Chim. Acta, **27**, 1287 (1944).
5. I. TĂNĂSESCU, I. GANEA, F. HODOȘAN, M. TERDIC, Acad. R.P.R., Bucureşti, Studii şi cercetări de chimie, **IV**, *1—2*, 1 (1956).
6. T. REICHSTEIN, H. G. FUCHS, Helv. Chim. Acta, **23**, 658 (1940).
7. V. R. MATTOX, E. C. KENDALL, J. Biol. Chem., **188**, 287 (1951).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

DESPRE MECANISMUL REACŢIILOR DE ALCHILARE ALE NUCLEULUI AROMATIC. REACŢII DE ALCHILARE ALE BENZENULUI, CATALIZATE DE ACIZI PROTONICI*)

DE

ACADEMICIAN COSTIN D. NENIŢESCU,
ACADEMICIAN ŞERBAN ŢIŢEICA şi VIORICA IOAN

Reacţia de alchilare a benzenului cu halogenuri de alchil, în prezenţa clorurii de aluminiu, are loc de obicei în mediu neomogen, de aceea efectuarea de măsurători cinetice în acest caz prezintă dificultăţi mari. Pentru eliminarea acestui neajuns, U l i c h şi H e y n e [1] au înlocuit clorura de aluminiu cu clorura de galiu mai solubilă, iar B r o w n şi colaboratorii săi [2], [3] au folosit drept dizolvant nitro-benzenul, în care clorura de aluminiu este solubilă sub forma unui complex.

În căutarea unor condiţii de reacţie cît mai simple am reluat o lucrare mai veche a noastră [4], în care se arătase că unele hidrocarburi superioare aromatice, cum sînt bifenilul, naftalina şi antracenul se pot condensa cu clorură de benzil, *fără catalizator*, prin simpla încălzire la temperatura de fierbere a amestecului :

$$ArH + C_6H_5CH_2Cl \longrightarrow C_6H_5CH_2Ar + HCl \qquad (I)$$

Această reacţie (aparent necatalitică) nu se pretează, din diverse motive, unui studiu cantitativ. În schimb, reacţia lui Z. F ö l d i [5], de condensare a benzen-sulfonatului de benzil cu benzenul, care conduce la difenil-metan :

$$C_6H_5CH_2 \cdot O \cdot O_2SC_6H_5 + C_6H_6 \longrightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot C_6H_5 + C_6H_5SO_3H \qquad (II)$$

poate fi studiată exact din punct de vedere cinetic. O serie de încercări preliminare au arătat că această reacţie decurge cu viteză măsurabilă, la temperaturi comode (30—80°C), în soluţie diluată şi este liberă de orice reacţie secundară, putîndu-se regăsi 97% din radicalul introdus în reacţie, sub formă de difenil-metan sau dibenzil-benzen.

De aceea am crezut că reacţia lui Földi reprezintă un caz deosebit de simplu de alchilare aromatică necatalitică. Conform concepţiei clasice

*) Notă prezentată la Congresul de chimie de la Budapesta, noiembrie 1955.

despre reacția de alchilare aromatică, mecanismul cel mai probabil al reacției lui Földi părea să fie :

$$C_6H_5CH_2-O-O_2SC_6H_5 \rightleftarrows C_6H_5CH_2^+ + {}^-O_3SC_6H_5 \qquad (III)$$

$$C_6H_5CH_2^+ + C_6H_6 \longrightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot C_6H_5 + H^+ \qquad (IV)$$

Dacă această schemă ar fi reală, prima dintre aceste reacții (III), care comportă ruperea unei legături și o despărțire de sarcini, ar trebui să fie lentă, determinantă de viteză, iar viteza reacției globale ar trebui să fie de ordinul I.

Încercări preliminare au arătat însă că reacția de alchilare a benzenului cu benzen-sulfonat de benzil nu este necatalitică, ci dimpotrivă autocatalitică, catalizatorul fiind acidul benzen-sulfonic format în reacție. Reacția nu pornește dacă lipsesc urme de acid sau dacă acestea sînt inhibate de substanțe bazice, cum ar fi dioxanul. În mod normal se observă o lungă perioadă de inducție, care poate fi mult scurtată prin adăugare de acid.

Măsurătorile cinetice s-au făcut la mai multe temperaturi prin titrarea acidului benzen-sulfonic liberat în reacție. Dacă se înscrie într-o diagramă creșterea concentrației de acid în funcție de timp se obține o curbă în formă de S, caracteristică pentru reacțiile autocatalitice (fig. 1, curba A).

S-au făcut măsurători cinetice similare înlocuindu-se benzenul cu toluen (curba B) și cu *m*-xilen (curba C). Viteza de reacție în toluen este de 2,6 , în *m*-xilen de 6,7 ori mai mare decît în benzen.

Mecanismul de reacție cel mai probabil, în urma acestor observații, a părut la început a fi :

$$C_6H_5CH_2-O-O_2SC_6H_5 + HO_3SC_6H_5 \rightleftarrows \left[C_6H_5CH_2-\overset{+}{\underset{|}{O}}-O_2SC_6H_5 \cdot {}^-O_3SC_6H_5\right] \qquad (V)$$

$$\left[C_6H_5CH_2-\overset{+}{\underset{|}{O}}-O_2SC_6H_5 \cdot {}^-O_3SC_6H_5\right] + C_6H_6 \longrightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot C_6H_5 + 2\,C_6H_5SO_3H \qquad (VI)$$

În prima reacție (V) esterul sulfonic fixează un proton cedat de acid, formînd o sare de oxoniu. Din cauza mediului nedisociant nu se formează însă ioni liberi, cu mișcări cinetice independente, ci ionii rămîn uniți sub forma unei perechi de ioni. Aceasta reacționează apoi cu benzenul conform ecuației (VI) (asupra acestei observații vom reveni mai departe).

Dintre cele două reacții formulate mai sus, prima (V), care reprezintă un echilibru protolitic, ar trebui să fie rapidă, în timp ce reacția (VI), în care se desfac și se formează legături covalente, ar trebui să fie lentă, determinantă de viteză. Deoarece benzenul este în mare exces, concentrația lui nu apare în ecuația cinetică. Formarea acidului benzen-sulfonic (HA), care se măsoară efectiv în reacție, va fi reprezentată prin următoarea ecuație (în care s-a notat $C_6H_5CH_2$ prin R și $C_6H_5SO_3$ prin A) :

$$\frac{d\,[HA]}{d\,t} = k'\,[RAH^+ \cdot A^-] \qquad (VII)$$

Cu alte cuvinte, viteza globală de reacție este proporțională cu concentrația intermediarului complex, cu caracter de pereche de ioni. Concentrația acestui intermediar este determinată de echilibrul :

$$[RAH^+ \cdot A^-] = K[RA][HA] \qquad (VIII)$$

Introducînd (VIII) în (VII) se obține :

$$\frac{d[HA]}{dt} = k'K[RA][HA] = k[RA][HA] \qquad (IX)$$

Pe de altă parte, caracterul autocatalitic al reacției implică faptul că fiecare moleculă de acid benzen-sulfonic format provine dintr-o moleculă

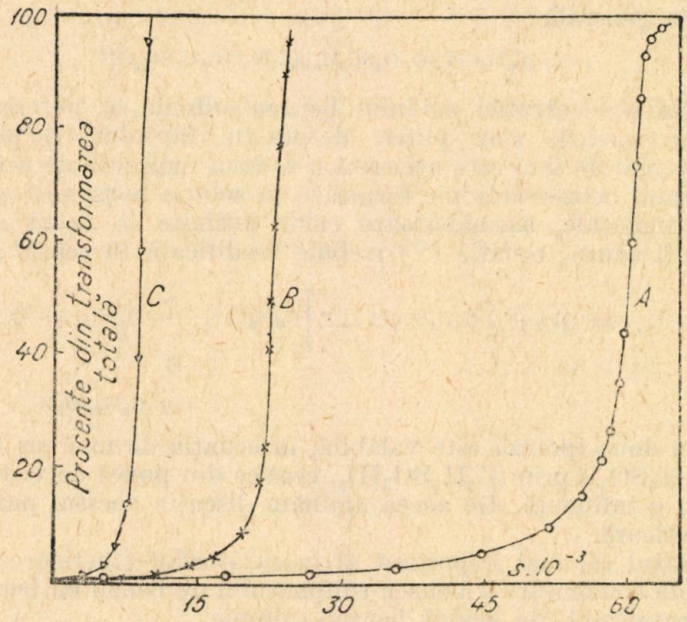


Fig. 1

de benzen-sulfonat de benzil dispărut. Dacă se notează cu $[RA_0]$ și $[HA_0]$ concentrațiile inițiale de benzen-sulfonat de benzil și de acid benzen-sulfonic și cu [RA] și [HA] concentrațiile acelorași reactanți la timpul t, este evidentă egalitatea :

$$[RA] + [HA] = [RA_0] + [HA_0] \qquad (X)$$

Introducînd în (IX) se obține :

$$\frac{d[HA]}{dt} = k([RA_0] + [HA_0] - [HA])[HA] \qquad (XI)$$

Expresia aceasta a fost integrată, dar verificarea datelor calculate cu cele experimentale a arătat că ea nu reprezintă corect mersul real al reacției. În schimb ecuația :

$$\frac{d[HA]}{dt} = k\,([RA_0] + [HA_0] - [HA])\,[HA]^2 \qquad \text{(XII)}$$

redă exact mersul reacției, nu numai în cazul benzen-sulfonatului de benzil, ci și al derivaților substituiți în nucleu ai acestui compus. Detaliile acestor măsurători se găsesc în lucrarea originală [6].

Rezultatele acestor experiențe ne conduc la concluzia că reacția dintre benzen-sulfonatul de benzil și benzen, catalizată de acidul benzen-sulfonic, este o reacție de ordinul I față de benzen-sulfonatul de benzil, de ordinul II față de acid și (probabil) de ordinul I față de benzen, așa că, făcînd abstracție de mersul ei autocatalitic, ea ar putea fi reprezentată prin ecuația generală :

$$v = k\,[C_6H_5CH_2 \cdot O \cdot O_2SC_6H_5]\,[C_6H_6]\,[C_6H_5SO_3H]^2 \qquad \text{(XIII)}$$

Apariția concentrației acidului benzen-sulfonic la puterea a doua, în ecuația cinetică, s-ar putea datora fie faptului că pentru solvatarea perechii de ioni este necesară o a doua moleculă de acid, fie faptului că acidul benzen-sulfonic formează în soluție benzenică asociații de cîte două molecule, asemănătoare celor întîlnite la acizii carboxilici. Oricare ar fi cauza, ecuația (V) trebuie modificată în sensul :

$$C_6H_5CH_2-O-O_2SC_6H_5 + 2\,C_6H_5SO_3H \rightleftharpoons \left[C_6H_5CH_2-\overset{+}{\underset{|}{O}}\underset{H}{}-O_2SC_6H_5 \cdot {}^{-}O_3SC_6H_5\right] + C_6H_6SO_3H \qquad \text{(XIV)}$$

Dacă a doua ipoteză este valabilă, în ecuația de mai sus trebuie înlocuit 2 $C_6H_5SO_3H$ prin $(C_6H_5SO_3H)_2$, ceea ce din punct de vedere cinetic nu are nici o influență. De aceea amînăm discuția acestui punct pentru o dată ulterioară.

Rezultatul cel mai important al măsurătorilor cinetice este dovada că reacția de condensare a benzen-sulfonatului de benzil cu benzenul este o reacție catalizată de acidul benzen-sulfonic.

Condensarea clorurii de benzil cu benzenul, catalizată de acidul benzen-sulfonic

După cum se știe, reacția dintre clorura de benzil și benzen, ducînd la difenil-metan :

$$C_6H_5CH_2Cl + C_6H_6 \longrightarrow C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot C_6H_5 + HCl \qquad \text{(XV)}$$

nu se produce decît în prezență de acizi Lewis, de exemplu $AlCl_3$ sau $ZnCl_2$. Acidul clorhidric nu catalizează această reacție după cum ne-am putut convinge într-o serie de încercări cu caracter preparativ. Acidul benzen-sulfonic s-a dovedit, în schimb, a fi un catalizator eficace. Diferența dintre acești doi acizi se explică, fără îndoială, prin tăria mult mai mare a acidului benzen-sulfonic față de acidul clorhidric. Acidul benzen-

sulfonic este deosebit de avantajos pentru lucrări cinetice de acest gen, fiind ușor solubil, cînd este anhidru, în dizolvanți nepolari.

Măsurătorile cinetice cu clorură de benzil au fost făcute după metoda fiolelor închise la flacără, fiecare fiolă fiind spartă după un anumit timp de reacție și ionul de clor format determinat după metoda Volhard.

S-au făcut cinci serii de determinări de viteze de reacții, toate la temperaturi de 80°C, cu soluții benzenice de clorură de benzil de concentrație egală (0,05 molară). Soluțiile acestea conțineau respectiv 7, 8, 10,

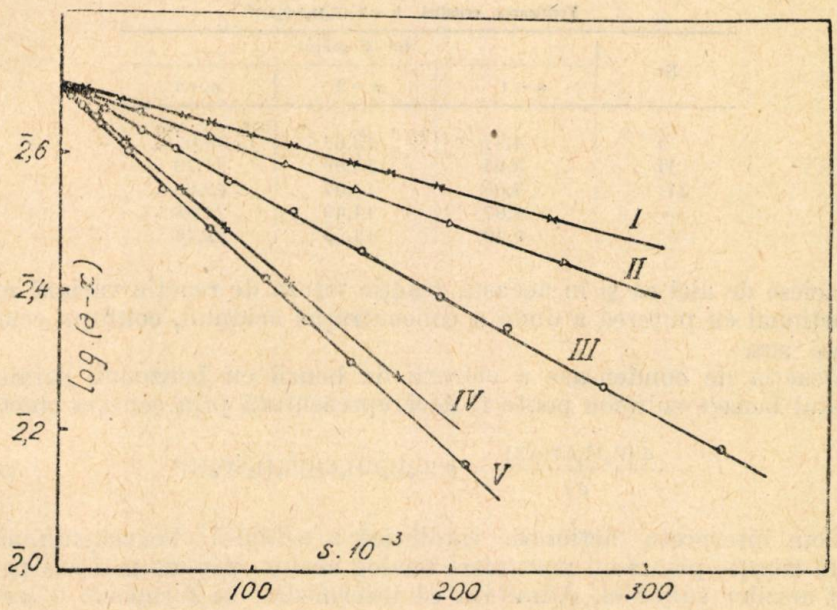


Fig. 2

12 și 13 moli de acid benzen-sulfonic la un mol de clorură de benzil. Concentrația acidului între cele două extreme a variat deci cu factorul 1,7.

Măsurătorile au arătat că, în toate cazurile, reacția este riguros de ordinul I față de clorura de benzil (fig. 2). În tabloul nr. 1 sînt redate constantele de viteză k, ale celor cinci serii de determinări, diferind între ele prin concentrația catalizatorului.

Tabloul nr. 1

Constantele de viteză ale reacției dintre clorura de benzil și benzen la diferite concentrații de catalizator

a = 0,05 mol/litru $C_6H_5CH_2Cl$; temp. = 80 ± 0,05°

Nr.	$C_6H_5SO_3H$ mol/litru	$\frac{C_6H_5SO_3H \text{ mol/litru}}{C_6H_5CH_2Cl \text{ mol/litru}}$	$10^6 \cdot k$ s^{-1}
I	0,3584	7,17	1,78
II	0,4028	8,06	2,27
III	0,5009	10,02	3,53
IV	0,6102	12,20	5,47
V	0,6469	12,94	6,08

Coeficientul de cataliză, k', rezultă din ecuația :

$$k = k' [C_6H_5SO_3H]^n . \qquad (XVI)$$

În tabloul nr. 2 sînt redate valorile k' calculate pentru $n = 1$, 2 și 3. După cum se vede, se obțin valori constante numai pentru $n = 2$, în timp ce pentru $n = 1$ și $n = 3$ se obțin deviații considerabile și de sens contrar.

Tabloul nr. 2

Verificarea ecuației $k = k' [C_6H_5SO_3H]^n$

Nr.	$10^6 \cdot k'$ pentru		
	$n = 1$	$n = 2$	$n = 3$
I	4,97	13,86	38,67
II	5,64	13,99	34,73
III	7,05	14,07	28,09
IV	8,97	14,69	24,08
V	9,40	14,53	22,46

Reiese de aici că și în această reacție viteza de reacție variază exact proporțional cu puterea a doua a concentrației acidului, conform ecuației de mai sus.

Reacția de condensare a clorurii de benzil cu benzenul, catalizată de acidul benzen-sulfonic poate fi deci reprezentată prin ecuația cinetică :

$$-\frac{d\,[C_6H_5CH_2Cl]}{dt} = k'[C_6H_5CH_2Cl][C_6H_5SO_3H]^2 \qquad (XVII)$$

Vom interpreta acțiunea catalitică a acidului benzen-sulfonic în această reacție printr-un mecanism analog aceluia propus mai sus pentru esterii acizilor sulfonici. Admitem că intermediar se formează o *sare de cloroniu* :

$$C_6H_5CH_2Cl + 2\,C_6H_5SO_3H \rightleftharpoons [C_6H_5CH_2-\overset{+}{Cl}-H\cdot{}^{-}O_3SC_6H_5] + C_6H_5SO_3H \qquad (XVIII)$$

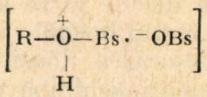
Vom mai adăuga în treacăt că bromura de benzil reacționează în mod similar, dar (în condiții comparabile) cu o viteză de circa 7 ori mai mică, în timp ce fluorura de benzil reacționează de cîteva mii de ori mai repede decît clorura. Fluorul este evident mult mai bazic decît ceilalți halogeni.

Din aceste încercări rezultă că acizii Lewis pot fi înlocuiți în reacțiile de condensare ale halogenurilor de alchil cu benzenul prin acizi protonici și deci că mecanismul acestor două tipuri de reacții este același. Concluziile obținute la studiul mecanismului reacțiilor catalizate de acizi protonici se pot deci extinde la cele catalizate de acizi Lewis.

Asupra mecanismului monomolecular sau bimolecular al alchilării aromatice

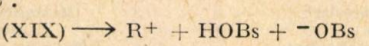
După cum s-a arătat mai sus, constantele de viteză ale reacției de condensare ale benzen-sulfonatul de benzil cu benzenul, toluenul și *m*-xilenul au valori foarte diferite. Hidrocarbura aromatică ia parte deci în etapa

determinantă de viteză a reacției de alchilare. Din măsurătorile cinetice se poate deduce că reacția de condensare propriu-zisă cu inelul aromatic este precedată de o reacție („preechilibrul" (XIV)) în care ia naștere o sare de oxoniu conținută în soluție sub forma unei perechi de ioni (Bs $= C_6H_5SO_2$; R $= C_6H_5CH_2$):

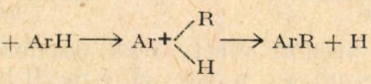


(XIX)

Reacția acestui intermediar cu hidrocarbura aromatică poate decurge, în principiu, pe două căi. După o concepție devenită astăzi clasică [7], [8], sarea de oxoniu (XIX) se rupe într-un ion de carboniu și o moleculă de acid sulfonic; ionul de carboniu reacționează apoi cu hidrocarbura aromatică, trecînd prin intermediarul cu caracter de aduct, cunoscut, al substituției aromatice:



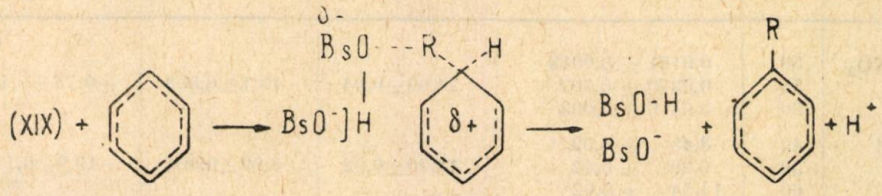
(XX)



(XXI)

În timp ce preechilibrul (XIV) se stabilește repede, următoarele reacții elementare (XX) și (XXI) decurg cu viteză mică și de același ordin de mărime, așa încît ambele procese elementare contribuie la viteza globală a reacției. Vom numi această succesiune de reacții *mecanism monomolecular* deoarece prezintă oarecare asemănare cu mecanismul substituției nucleofile monomoleculare a halogenurilor de alchil, denumit de Ingold și Hughes mecanism SN1. (Deosebirea față de acest mecanism constă numai în faptul că în cazul discutat aici solventul aprotic în care se lucrează este impropriu să solvateze ionii formați în ecuația (XX); solvatarea are loc în acest caz, cu cea mai mare probabilitate, prin a doua moleculă de acid benzen-sulfonic care se recunoaște cinetic).

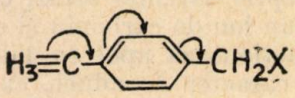
După o altă concepție recentă a lui H. C. Brown și colaboratori [2], [3], în reacția de alchilare aromatică nu apar ioni de carboniu decelabili pe cale cinetică. Dimpotrivă, în stadiul de alchilare al inelului benzenic ar avea loc o deslocuire directă a anionului prin molecula aromatică. În cazul nostru, al alchilării inelului aromatic printr-un ester de acid sulfonic, acest proces ar fi formulat astfel:



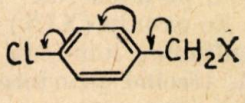
(XXII)

Această reacție elementară, ce decurge într-un singur stadiu, printr-un intermediar de tipul „stării de tranziție" (XXII), ar trebui să fie numită *mecanism bimolecular* al alchilării inelului aromatic din cauza asemănării cu reacția halogenurilor de alchil desemnată de Hughes și Ingold drept mecanism SN2.

Fără a intra în toate amănuntele argumentației lui H. C. Brown, în sprijinul teoriei sale, vom arăta încercări care, după părerea noastră, aduc dovezi în favoarea mecanismului monomolecular. Am plecat de la considerația că forța motoare în mecanismul monomolecular trebuie să fie *ruperea unei legături*, iar în mecanismul bimolecular dimpotrivă *formarea unei legături*. Se poate decide între aceste două posibilități prin introducere de substituenți în restul benzilic al esterului sulfonic. Se poate prevedea că mărirea sau micșorarea densității de electroni la centrul de reacție, produsă de substituenți, schimbă viteza de reacție în raport cu viteza reacției esterului nesubstituit, în modul următor :



Mecanism bimolecular : întîrziere ;
Mecanism monomolecular : accelerare



Mecanism bimolecular : accelerare ;
Mecanism monomolecular ; întîrziere

Pentru urmărirea acestor efecte s-au condensat cu benzen esterii sulfonici ai alcoolilor *m*-nitro-, *p*-clor- și *p*-metil-benzilici, s-au măsurat vitezele de reacție și s-au comparat cu reacția esterului benzilic nesubstituit. După cum se vede din tabloul nr. 3, cu fiecare dintre acești esteri s-au făcut determinări la trei temperaturi diferite și, din constantele de viteză obținute, s-au calculat energiile de activare și entropiile de activare. De asemenea s-a calculat constanta ρ după Hammett [9] la temperatura de 50,0°C a întregii serii de determinări. S-a găsit cea mai mare viteză de reacție (cele mai mici energii și entropii de activare) la benzen-sulfonatul de *p*-metil-benzil. Vitezele de reacție scad apoi în ordinea :

$$p\text{-}CH_3 > H > p\text{-}Cl > m\text{-}NO_2$$

Constanta lui Hammett are o valoare negativă mare ($\rho = -4{,}17$).

Tabloul nr. 3

Constante de viteză, energii de activare și entropii de activare pentru reacțiile benzen-sulfonaților de benzil substituiți cu benzenul

R	Temp. °C	$10^2 \cdot k$ litru^2 · mol^{-2} · s^{-1}	E kcal · mol^{-1}	log A	$\Delta S^{\neq}$ cal. mol^{-1} · grad^{-1} 50°C
m-NO_2	50	0,0161 ± 0,0013			
	55	0,0279 ± 0,002	24,90±0,04	13,1±0,008	−0,78±0,4
	60	0,0516 ± 0,003			
p-Cl	40	3,45 ± 0,02			
	50	6,99 ± 0,02	14,90±0,02	8,92±0,004	−19,9±0,1
	60	14,54 ± 0,02			
p-H	30	7,02 ± 0,02			
	40	9,74 ± 0,03	6,78±0,01	3,74±0,002	−43,6±0,01
	50	14,19 ± 0,02			
	60	19,22 ± 0,02			
p-CH_3	35,95	74,07			
	41,95	76,66	3,87	2,62	−48,7
	50	96,72			

Este deosebit de interesant să se compare acest rezultat cu observațiile făcute la alte reacții ale unor derivați benzilici, anume la halogenurile de benzil substituite în nucleu. Reacțiile halogenurilor de benzil cum sînt hidrolizele, alcoolizele etc. decurg, după condițiile de lucru, fie după mecanismul monomolecular, fie după cel bimolecular. Astfel, conform datelor din literatură, reacțiile clorurilor de benzil cu ionul de iod, în soluție de acetonă uscată, sînt reacții bimoleculare tipice, ale căror viteze scad în ordinea [10]:

$$p\text{-}NO_2 > m\text{-}NO_2 > p\text{-}Cl > H \qquad (\rho = +0{,}78)$$

De asemenea, la alcooliza fluorurilor de benzil cu etoxid de sodiu, în soluție de etanol 95%, s-a constatat următoarea succesiune a vitezelor de reacție [11]:

$$p\text{-}NO_2 > m\text{-}NO_2 > p\text{-}Cl > m\text{-}Cl > p\text{-}CH_3 > H > m\text{-}CH_3$$

Constanta ρ a lui Hammett, calculată de noi pentru această serie, are valoarea + 0,74. După cum se vede, în acest caz particular valorile pentru p-CH_3 dau abateri mari ceea ce se explică, fără îndoială, prin marea tendință a acestei grupe de a favoriza mecanismul monomolecular (SN1).

Dacă considerăm dimpotrivă reacțiile de hidroliză ale clorurilor de benzil substituite în nucleu, efectuate într-un amestec de acetonă și apă, deci în condiții favorabile mecanismului de reacție monomolecular [10], se constată o descreștere a vitezei în ordinea următoare:

$$p\text{-}CH_3 > H > p\text{-}Cl > m\text{-}Cl > m\text{-}NO_2 > p\text{-}NO_2,$$

iar constanta $\rho = -1{,}87$ [9]. Ca un alt exemplu, mai fie menționați p-toluen-sulfonații de benzil substituiți în nucleu, care hidrolizați în acetonă apoasă, reacționează cu o cinetică de ordinul I, vitezele variind în ordinea [12]:

$$p\text{-}CH_3 > m\text{-}CH_3 > H > p\text{-}Br > p\text{-}NO_2 \qquad (\rho = -2{,}2)$$

Din aceste citate reiese în mod evident că influența substituenților din pozițiile *meta* sau *para*, asupra vitezelor de reacție variază în sens invers cînd se trece de la reacțiile bimoleculare la reacțiile monomoleculare (de tipul mecanismelor SN1 și SN2 ale lui Ingold [13]).

Concluzia aceasta este valabilă și pentru reacțiile de alchilare ale nucleului benzenic cu cloruri de benzil, catalizate de clorura de aluminiu. După cum au arătat Brown și Grayson [2], viteza de reacție scade aici în ordinea:

$$H > p\text{-}Cl > 3{,}4\text{-}Cl_2 > p\text{-}NO_2$$

Autorii au interpretat acest rezultat în sensul unui mecanism bimolecular, într-un singur stadiu. După cum se vede succesiunea este aceeași ca cea găsită de noi în experiențele cu esteri sulfonici, iar constanta lui Hammett ($\rho = -4{,}90$) are practic aceeași valoare în ambele cazuri. Considerăm de aceea că și în reacția de alchilare a nucleului aromatic prin halogenuri de alchil, în cataliza cu clorură de aluminiu, momentul esențial este ruperea unei legături. Materialul experimental prezentat de Brown și Grayson nu constituie după părerea noastră un motiv suficient pentru a se renunța la mecanismul, devenit acum clasic, al reacției Friedel-Crafts, care prevede apariția ionilor de carboniu [7], [8].

Argumentele lui H. C. Brown și colaboratori [2], [3], în favoarea unui mecanism bimolecular, bazate pe izomerizarea (incompletă) a alchilului, în anumite reacții de alchilare ale benzenului, ar constitui o dovadă efectivă în acest sens, numai dacă nu s-ar produce nici un fel de izomerizare. O izomerizare parțială reprezintă mai de grabă un argument în favoarea unei ionizări. Producerea unei izomerizări numai parțiale a alchilului se poate explica simplu prin aceea că la atacul nucleofil al inelului benzenic asupra perechii de ioni (XIX), ionul de carboniu este parțial ecranat de ionul negativ. Și aici analogia cu reacțiile de solvatare, de felul celor descrise de J. D. Roberts [14], este completă.

Am vrea să mai adăugăm că reacția de alchilare a nucleului aromatic cu benzen-sulfonați de alchil, descoperită de Földi la benzen-sulfonatul de benzil, poate fi extinsă, după cum au arătat lucrări nepublicate ale acestui laborator, și la benzen-sulfonați de alcooli secundari și ea merge foarte încet cu benzen-sulfonați de alcooli alifatici primari. Această scădere de viteză de la alchilii secundari la alchilii primari constitue o dovadă suplimentară pentru mecanismul monomolecular bazat pe ruperea unei legături, în faza determinantă de viteză, a reacției de alchilare a nucleului benzenic. Este știut că alchilii secundari formează ioni de carboniu mai ușor decît cei primari. În cazul unei substituții directe bimoleculare alchil-derivații primari ar trebui să reacționeze mai repede decît cei secundari. În sfîrșit, trebuie să adăugăm că la condensarea benzen-sulfonatului de *sec*-butil optic activ cu benzenul, se formează *sec*-butil-benzen complet inactiv [15].

Laboratorul de cercetări chimice al Academiei R.P.R., București

Prezentat la redacție la 24 decembrie 1955

О МЕХАНИЗМЕ РЕАКЦИЙ АЛКИЛИРОВАНИЯ АРОМАТИЧЕСКОГО ЯДРА РЕАКЦИИ АЛКИЛИРОВАНИЯ БЕНЗОЛА В ПРИСУТСТВИИ ПРОТОНОВЫХ КИСЛОТ В КАЧЕСТВЕ КАТАЛИЗАТОРОВ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Описываются опыты по конденсации бензолсульфоната бензила с бензолом, ведущие к образованию дифенилметана. Произведенные кинетические измерения показывают, что эта реакция является реакцией первого порядка по отношению к сульфоэфиру и реакцией второго порядка по отношению к бензолсульфокислоте, являющейся катализатором. Скорость реакции в толуоле в 2,6 раза и в *m*-ксилоле в 6,7 раз больше, чем в бензоле. Были проведены аналогичные кинетические определения на бензолсульфоэфирах *p*-метил, *p*-хлор и *m*-нитробензилового спиртов, причем были вычислены их теплосодержание и энергия активации, а также и постоянная Гаммета.

Второй ряд измерений показал, что хлористый бензил, бромистый бензил и фтористый бензил также конденсируются с бензолом под каталитическим действием бензолсульфокислоты, причем и в этом случае получается дифенилметан. В качестве промежуточных соединений образуются, по всей вероятности, соли галония.

Исследование механизма реакции позволило заключить, что реакция ароматического алкилирования протекает в два этапа, аналогично механизму SNI, причем двигательная сила реакции является результатом разрушения одной из связей.

SUR LE MÉCANISME DES RÉACTIONS D'ALCOYLATION DU NOYAU AROMATIQUE. RÉACTIONS D'ALCOYLATION DU BENZÈNE CATALYSÉES PAR DES ACIDES PROTONIQUES

(RÉSUMÉ)

Les auteurs décrivent des essais de condensation du benzène-sulfonate de benzyle avec le benzène, qui conduisent à la formation du diphénylméthane. Les mesures cinétiques ont montré que cette réaction est de l'ordre I, par rapport à l'esther sulfonique, et de l'ordre II, par rapport à l'acide benzène-sulfonique catalyseur. La vitesse de réaction est 2,6 fois plus grande dans le toluène et 6,7 fois, dans le *m*-xylène que dans le benzène. Des déterminations cinétiques similaires ont été effectuées avec les esthers benzène-sulfoniques des alcools *p*-méthyle, *p*-chlore et *m*-nitro-benzyliques, pour lesquels on a calculé les énergies et les entropies d'activation, ainsi que la constante ρ de Hammett.

Une autre série de mesures a montré que le chlorure de benzyle, le bromure de benzyle et le fluorure de benzyle se condensent également avec le benzène, sous l'action catalytique de l'acide benzène-sulfonique, avec formation, dans ces cas aussi, du diphénylméthane. Intermédiairement apparaissent, avec la plus grande probabilité, des sels de halonium.

La discussion du mécanisme de réaction a conduit à la conclusion que la réaction d'alcoylation aromatique a lieu par un processus à deux étapes, analogue au mécanisme SN1, dans lequel la force motrice de la réaction est la rupture d'une liaison.

BIBLIOGRAFIE

1. H. Ulich, G. Heyne, Z. Elektrochem., **41**, 509 (1935).
2. H.C. Brown, M. Grayson, J. Am. Chem. Soc., **75**, 6285 (1953).
3. H.C. Brown, H. W. Pearsall, L. P. Eddy, W. J. Walace, M. Grayson, K. Leroi Nelson, Ind. Eng. Chem., **45**, 1462 (1953).
4. C. D. Nenitescu, D. A. Isăcescu, C.N. Ionescu, Ann., **491**, 210 (1931).
5. Z. Földy, Ber., **61**, 1609 (1928).
6. C.D. Nenitescu, S. Țiteica, V. Ioan, Bull. Soc. Chim. France, (1955), 1272, 1279.
7. H. Meerwein, Ann., **455**, 227 (1927).
8. C.C. Price, *Organic Reactions*, John Wiley & Sons, New York, 1946, vol. III.
9. L.P. Hammett, *Physical organic Chemistry*. Mc. Graw-Hill Book Co., New York, 1940.
10. G.M. Bennett, B. Jones, J. Chem. Soc., (1935), 1815.
11. W.T. Miller, J. Bernstein, J. Am. Chem. Soc., **70**, 3600 (1948); S. C. J. Olivier, Rec. Trav. Chim., **42**, 775 (1923).
12. J.K. Kochi, G.S. Hammond, J. Am. Chem. Soc., **75**, 3445 (1953).
13. H.B. Watson, *Modern Theories of organic Chemistry*, Oxford University Press, 1941.
14. J. D. Roberts, W. Bennett, Mc. Mahon, Holroyd, J. Am. Chem, Soc., **74**, 4283 1952.
15. Lucrări necomunicate ale acestui laborator.

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

O NOUĂ METODĂ DE DETERMINARE COLORIMETRICĂ A CUPRULUI*)

DE

ACADEMICIAN G. SPACU şi J. SCHERZER

Pentru determinări colorimetrice se foloseşte deseori metoda precipitării ionului de dozat sub forma unei combinaţii colorate insolubile în apă şi extragerea ei ulterioară cu un solvent organic nemiscibil cu apa. Soluţia astfel obţinută este de asemenea colorată şi din intensitatea culorii ei se poate deduce cantitatea de substanţă dozată.

Metoda extracţiei cu un solvent nemiscibil cu apa prezintă avantajul că pot fi extrase dintr-un volum mare de soluţie apoasă cantităţi mici de substanţă şi concentrate într-un volum mic. Sensibilitatea reacţiei este astfel mult mărită. Totodată acest procedeu permite separarea substanţei de determinat de substanţe străine.

Aceste metode sînt deseori folosite la determinarea colorimetrică a cuprului, de exemplu sub formă de ditizonat [1], sau de $[CuPy_2(SCN)_2]$ [2]. Noi am elaborat o astfel de metodă de determinare colorimetrică a cuprului sub formă de $[CuPy_2(OCN)_2]$.

Prin tratarea soluţiei unei sări cuprice cu piridină şi cu un cianat alcalin se formează un precipitat cristalin albastru deschis de $[CuPy_2(OCN)_2]$. Substanţa se dizolvă uşor în cloroform colorîndu-l în albastru.

Această combinaţie a fost obţinută pentru prima dată de E. A. Werner [3], care a folosit-o pentru identificarea cianaţilor. Aceeaşi substanţă a fost studiată de R. Ripan [4]. K. Bailey şi D. Bailey [5] o utilizează la determinarea colorimetrică a cianaţilor. Ulterior, această metodă a fost studiată mai amănunţit de E. L. Martin şi J. Mc Clelland [6]. Noi am studiat condiţiile în care soluţia cloroformică de $[CuPy_2(OCN)_2]$ poate fi folosită la determinarea colorimetrică a cuprului.

Stabilirea condiţiilor de lucru

Pentru analiză s-au folosit soluţii de sulfat de cupru cu concentraţii de 0,5—0,6 mg Cu/cm³. Ca reactivi s-a folosit piridină p.a. şi o soluţie proaspăt preparată din cianat de potasiu chimic pur, 5%. Pentru stabilirea

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 23 ianuarie 1956.

pH-ului soluţiei, la diferite valori constante şi cunoscute, s-au folosit soluţii 1/15 M de Na_2HPO_4 şi NaH_2PO_4, amestecate în proporţiile necesare. Pentru extracţie s-a folosit cloroform purificat.

Măsurătorile s-au efectuat cu un colorimetru fotoelectric FEK—M, tip 1952.

Metoda a fost studiată şi elaborată pentru cantităţi de cupru cuprinse între 0,3 şi 3 mg cupru.

a. *Alegerea filtrului de lumină.* Din datele spectrale găsite în literatură [6] pentru soluţia de $[CuPy_2(OCN)_2]$ în cloroform, rezultă că, curba de absorbţie prezintă un maxim la o lungime de undă de 680 mμ. De aceea măsurătorile s-au efectuat în lumina corespunzătoare, obţinută cu filtrul roşu al colorimetrului.

b. *Influenţa concentraţiei reactivilor.* Pentru a stabili influenţa pe care o exercită excesul de piridină asupra extincţiei s-au adăugat cantităţi variabile de piridină şi 3 cm^3 soluţie KOCN 5% la probe de 0,5—5 cm^3 soluţie de sulfat de cupru, care conţineau 0,3—3 mg cupru. Complexul format a fost extras de 3 ori cu cîte 5 cm^3 cloroform la 20°C, extractele cloroformice au fost culese într-un balon cotat de 25 cm^3, soluţia a fost completată cu cloroform pînă la semn şi analizată colorimetric. S-a constatat că pentru a obţine o variaţie liniară a extincţiei cu concentraţia, în domeniul concentraţiilor indicate, este necesar un exces relativ mare de piridină. Folosind mai puţin decît 0,75 cm^3 piridină, s-a constatat, mai ales în cazul soluţiilor mai concentrate, că după extracţia cu cloroform stratul apos mai rămîne colorat în albastru, iar extincţia nu variază liniar decît în domeniul cantităţilor mai mici de cupru. Folosind cantităţi mai mari de piridină, soluţiile cloroformice au fost deseori tulburi. De aceea noi am folosit în cursul determinărilor 0,75 cm^3 piridină pentru fiecare probă.

Cantitatea de cianat de potasiu adăugată trebuie de asemenea luată în exces, deoarece, în caz contrar, coloraţia albastră a soluţiei apoase nu este extrasă complet de cloroform. Noi am folosit 3 cm^3 soluţie de KOCN 5% pentru o probă.

Soluţiile apoase de cianaţi alcalini sînt puţin stabile, deoarece cianaţii suferă o descompunere hidrolitică lentă. De aceea trebuie folosite soluţii de cianat proaspăt preparate.

Dacă soluţia sării de cupru este diluată, combinaţia complexă formată nu precipită. Însă, prin agitare cu cloroform, culoarea albastră este extrasă.

c. *Influenţa pH-ului.* S-a urmărit influenţa pe care o exercită pH-ul soluţiei apoase asupra extincţiei soluţiei de $[CuPy_2(OCN)_2]$ în cloroform.

În acest scop, la soluţia sării de cupru s-au adăugat 5 cm^3 soluţie tampon de fosfat primar şi secundar de sodiu. Proporţia dintre fosfatul primar şi secundar din soluţia tampon a fost astfel aleasă încît să imprime soluţiei pH-ul dorit. După adăugarea reactivilor, combinaţia complexă a fost extrasă cu cloroform şi analizată colorimetric.

S-au făcut determinări la pH = 6,2; 7 şi 8. În cazul soluţiilor cu pH = 6,2 s-a observat o abatere de la variaţia liniară a extincţiei. La soluţiile cu pH = 7, această abatere se manifestă mai slab. La soluţiile cu pH = 8, extincţia variază liniar cu concentraţia, respectîndu-se legea lui Beer. Valorile găsite în aceste condiţii corespund, în limita erorilor experimentale, cu cele obţinute în absenţa soluţiei tampon; aceasta se explică prin faptul că în lipsa soluţiei tampon, pH-ul soluţiei care conţine

numai sulfat de cupru, piridină și cianat de potasiu, are o valoare apropiată de 8.

d. *Influența temperaturii.* Pentru a stabili influența temperaturii asupra extincției, după adăugarea reactivilor la soluția sării de cupru, aceasta a fost lăsată în repaus timp de 10 minute, la diferite temperaturi. După aceea s-au făcut extracțiile cu cloroform.

S-au efectuat extracții la 0, 20 și 35°C, cu variații de ± 1°. Baloanele cotate cu extractele cloroformice au fost introduse în termostat, unde au fost lăsate timp de jumătate de oră la 20°C, după care au fost completate pînă la semn; apoi soluțiile au fost analizate colorimetric. S-au obținut rezultatele din tabloul nr. 1.

Tabloul nr. 1

cm³ soluție	Cu mg	Extincția pentru soluții extrase la		
		0°C	20°C	35°C
0,6	0,34	0,113	0,113	0,101
2,5	1,42	0,399	0,390	0,375
4,5	2,56	0,690	0,681	0,640

Se constată că, în general, extincția scade cu creșterea temperaturii. Totuși, s-a observat că făcînd extracția la 35°C, atunci cînd balonul a fost răcit la 20°C înainte de determinarea colorimetrică, pe pereții balonului s-au separat din soluția cloroformică picături mici de apă. Pentru a ușura determinarea, s-a ales temperatura de lucru de 20°C.

e. *Influența timpului.* Efectuînd extracțiile cu cloroform, la intervale de timp diferite de la momentul adăugării reactivilor la soluția sării de cupru, s-au obținut rezultatele din tabloul nr. 2.

Tabloul nr. 2

cm³ soluție	Cu mg	Extincția la			
		t*) = 0	t = 10 min	t = 30 min	t = 60 min
0,6	0,34	0,117	0,113	0,113	0,111
4,5	2,56	0,679	0,681	0,681	0,680

*) t indică timpul scurs de la adăugarea reactivilor pînă la extracție.

Se observă că se obțin valori concordante pentru extincție, în limita erorilor experimentale. Pentru uniformitate s-a ales o durată de ședere de 10 minute, înainte de efectuarea extracției.

Soluția combinației complexe în cloroform este și ea stabilă în timp. Analizînd colorimetric soluțiile la intervale de timp pînă la două ore după extracție, s-au obținut valori concordante.

Pe baza cercetărilor de mai sus s-au putut stabili condițiile optime pentru determinarea colorimetrică a cuprului sub forma de $[CuPy_2(OCN)_2]$.

Modul de lucru

Se tratează într-o pîlnie de separare 5 cm³ soluție de analizat, care conțin cel mult 3 mg cupru, cu 0,75 cm³ piridină și 3 cm³ soluție de cianat de potasiu 5%, se agită, se lasă în repaus 10 minute la 20°C și se extrage de 3 ori cu cîte 5 cm³ cloroform, menținînd soluția în intervalele dintre extracții de asemenea la 20°C. Ultimul extract trebuie să fie incolor.

Extractele se reunesc într-un balon cotat de 25 cm^3, se completează pînă la semn şi se analizează colorimetric în lumina obţinută cu filtrul roşu.

S-au folosit cuve acoperite cu lungimea de 5 cm. Ca mediu optic vid a servit cloroformul pur.

S-a trasat o curbă de etalonare cu cantităţi de cupru cuprinse între 0,3 şi 3 mg (figura alăturată).

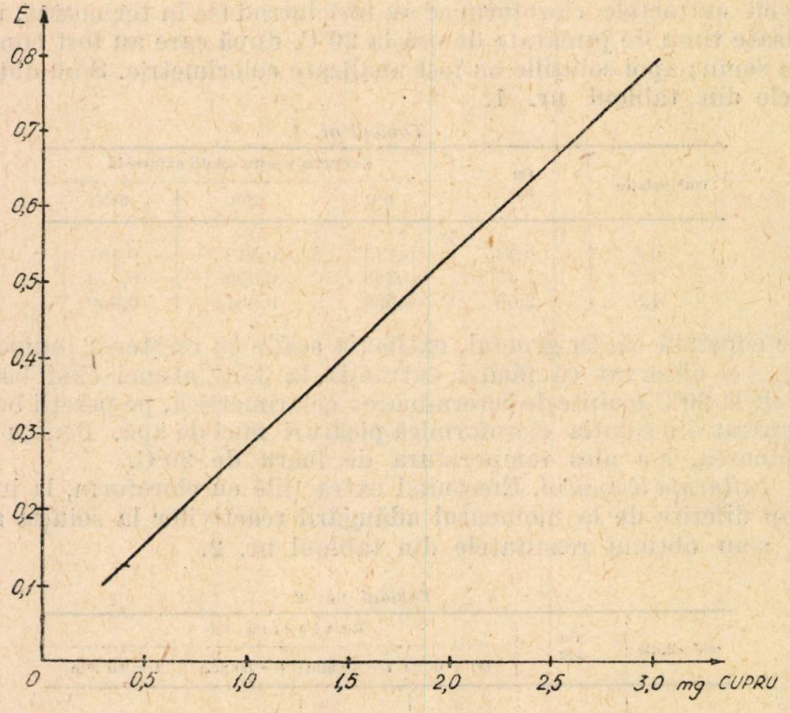


Fig. 1

Abaterile constatate la diferite determinări, dintre care unele sînt reproduse în tabloul nr. 3, intră în limitele erorii aparatului utilizat ($E = \pm 0{,}005$).

Tabloul nr. 3

Cu mg	E*)	ε**) %
0,29	0,096	—
0,38	0,127	+4,48
0,47	0,147	+1,06
0,95	0,272	+1,26
1,43	0,391	−0,56
1,66	0,453	+0,66
2,14	0,572	−0,42
2,38	0,640	+0,63
2,62	0,700	+0,42
3,00	0,790	−0,40

*) E — extincţia.
**) ε = eroarea.

Astfel, pentru determinări efectuate cu 0,3 mg cupru s-a constatat o abatere medie de la această curbă de 4,5%, iar pentru determinări cu 3 mg cupru, abaterea medie este de 0,4%.

Metoda se pretează la determinări în serie.

Determinarea cuprului în prezența altor metale

S-au efectuat o serie de încercări pentru a studia posibilitatea determinării cuprului în prezența altor metale. În acest scop s-au preparat soluții de săruri de diferite metale, cu concentrația de aproximativ 1 mg metal/cm³. La cantități variabile din soluția sării de cupru, cuprinzînd 0,3—3 mg cupru, s-au adăugat cantități constante din soluția care conținea ionul străin și s-a determinat cuprul după metoda mai sus arătată.

Determinarea cuprului în prezența manganului. S-a folosit o soluție de clorură manganoasă. S-au luat cantități variabile din soluția sării de cupru la care s-au adăugat 2 cm³ soluție de clorură manganoasă, care conțineau 2 mg mangan. În soluția astfel obținută s-a determinat cuprul în modul indicat, obținîndu-se rezultatele date în tabloul nr. 4.

Tabloul nr. 4

Cu mg	Mn mg	*E*	ε %
0,35	2	0,118	+3,43
0,47	2	0,148	+2,34
0,95	2	0,273	+1,89
1,43	2	0,396	+1,19
1,90	2	0,512	—
2,14	2	0,580	+1,21
2,38	2	0,640	+0,67
2,85	2	0,754	+0,88
3,00	2	0,786	−1,47

Determinarea colorimetrică a cuprului în aceste condiții a arătat că manganul nu împiedică această determinare, deoarece se obțin valori concordante, în limita erorilor experimentale, cu cele obținute în absența manganului.

Determinarea cuprului în prezența zincului. S-a utilizat o soluție de sulfat de zinc. Procedeul aplicat a fost același ca în cazul precedent, cu deosebirea că în locul soluției de clorură manganoasă s-au adăugat la fiecare probă de cupru cîte 2 cm³ soluție de sulfat de zinc, care conțineau 2 mg zinc. Determinările efectuate au arătat că, pentru soluții care conțin între 0,3 și 2 mg cupru, abaterile față de curba de etalonare intră în limita erorilor experimentale (tabloul nr. 5).

Tabloul nr. 5

Cu mg	Zn mg	*E*	ε %
0,35	2	0,116	+1,71
0,47	2	0,147	+1,06
0,95	2	0,273	+1,89
1,43	2	0,394	+0,49
1,90	2	0,508	−1,00
2,00	2	0,537	—

Determinarea cuprului în prezenţa argintului. S-a folosit o soluţie de azotat de argint. Deoarece în prezenţă de 2 mg argint abaterile de la curba de etalonare au fost prea mari, s-a determinat cuprul în prezenţă de 1 mg argint (tabloul nr. 6).

Tabloul nr. 6

Cu mg	Ag mg	*E*	ε %
0,35	1	0,113	−2,53
0,47	1	0,147	+1,06
0,71	1	0,212	+2,11
0,95	1	0,275	+2,10
1,43	1	0,390	−0,63
1,48	1	0,406	+0,47

Abaterile de la curba de etalonare la determinarea unor cantităţi de 0,3—1,5 mg cupru în prezenţă de 1 mg argint intră în limita erorilor experimentale.

Determinarea cuprului în prezenţa mercurului. S-a lucrat cu o soluţie de clorură mercurică. Şi în acest caz s-au făcut determinări de cupru în prezenţă de 1 mg mercur (tabloul nr. 7).

Tabloul nr. 7

Cu mg	Hg mg	*E*	ε %
0,34	1	0,114	+0,29
0,45	1	0,144	+2,66
0,60	1	0,180	+0,66
0,85	1	0,246	+1,41
1,00	1	0,276	−2,10

Făcînd determinări cu cantităţi de cupru cuprinse între 0,3 şi 1 mg cupru, în prezenţă de 1 mg mercur, se constată că abaterile de la curbă sînt cuprinse în limita erorilor experimentale.

În condiţiile noastre de lucru, determinarea cuprului este împiedicată de ionii Co^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Al^{3+}.

CONCLUZII

1. S-a elaborat o nouă metodă de determinare colorimetrică a cuprului sub formă de $[CuPy_2\ (OCN)_2]$ în soluţie de cloroform.
2. S-a stabilit influenţa pe care o exercită diferiţi factori ca : concentraţia reactivilor, pH-ul soluţiei, temperatura, timpul.
3. S-au stabilit condiţiile de determinare colorimetrică a cuprului în prezenţă de săruri de mangan, zinc, argint şi mercur.

Laboratorul de chimie anorganică al Universităţii „C. I. Parhon", Bucureşti

Prezentat la redacţie la 10 ianuarie 1956

НОВЫЙ МЕТОД КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕДИ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Для количеств в 0,3—3 мг меди авторами разработан новый метод колориметрического определения меди в виде [Cu Py_2 $(OCN)_2$] в растворе хлороформа.

Было исследовано влияние, оказываемое на погасание концентрацией реактивов, pH раствора, температурой, временем и посторонними ионами. Погасание изменяется линейно, если для осаждения [Cu Py_2 $(OCN)_2$] используется сравнительно большой избыток реактивов и производится экстрагирование хлороформом при pH 8 и при 20°.

Было исследовано влияние посторонних ионов на погасание. Авторы установили, что могут быть определены 0,3—3 мг меди в присутствии 2 мг марганца, 0,3—2 мг меди в присутствии 2 мг цинка, 0,3—1,5 мг меди в присутствии 1 мг серебра и 0,3—1 мг меди в присутствии 1 мг ртути

UNE NOUVELLE MÉTHODE DE DÉTERMINATION COLORIMÉTRIQUE DU CUIVRE

(RÉSUMÉ

Les auteurs ont trouvé une méthode nouvelle de détermination colorimétrique du cuivre sous la forme de [Cu Py_2 $(OCN)_2$] en solution dans le chloroforme, pour des quantités de 0,3—3 mg de cuivre.

Ils ont étudié l'influence qu'exercent sur l'extinction la concentration des réactifs, le pH de la solution, la température, la durée et les ions étrangers. L'extinction varie linéairement si pour la précipitation de [Cu Py_2 $(OCN)_2$] on utilise un excès relativement grand de réactifs et l'on fait l'extraction par du chloroforme au pH = 8 à 20°.

Ils ont examiné l'influence des ions étrangers sur l'extinction et ont constaté que l'on pouvait déterminer 0,3—3 mg de cuivre en présence de 2 mg de manganèse, 0,3—2 mg de cuivre en présence de 2 mg de zinc, 0,3—1,5 mg de cuivre en présence de 1 mg d'argent et 0,3—1 mg de cuivre en présence de 1 mg de mercure.

BIBLIOGRAFIE

1. H. Fischer, G. Leopoldi, Wiss. Veröff. Siemens-Konz. **12**, *1*, 44 (1933), Angew. Chem., **47**, 90 (1934).
2. R. Biazzo, Ann. Chim. Appl., **16**, 96 (1926).
3. E.A. Werner, J. Chem. Soc., **123**, 2577 (1923).
4. R. Ripan, Bul. Soc. St. Cluj, **3**, 176 (1926).
5. K. Bailey, D. Bailey, Proc. Roy. Irish Acad., **37 B**, 1 (1924).
6. E. L. Martin, J. Mc Clelland, Anal. Chem., **23**, 1519 (1951).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

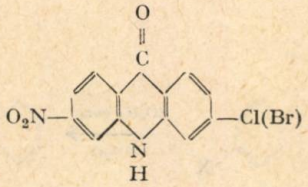
DESPRE ACRIDONE (XV)

CONDENSAREA 2,4-DINITROBENZALDEHIDEI CU CLOR- ŞI BROM-BENZEN *)

DE

ACADEMICIAN I. TĂNĂSESCU şi Z. FRENKEL

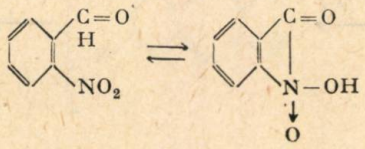
În lucrări anterioare [1], [2] s-a arătat că prin condensarea 2,4-dinitro-benzaldehidei cu clor- sau brom-benzen, se obţine 3-nitro-6-clor (brom)-acridonă (I)



(I)

Cercetările ulterioare [3], [4], [5], [6] au demonstrat că în ceea ce priveşte mecanismul intim de formare a acridonelor, în aceste reacţii, concepţia despre tautomeria *orto*-nitro-benzaldehidei a permis o interpretare unitară şi logică.

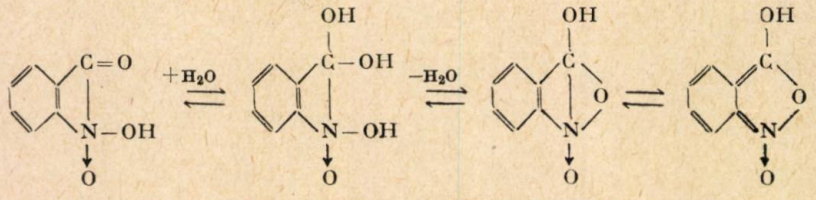
După această concepţie, *orto*-nitro-benzaldehidele sînt capabile să reacţioneze în următoarele forme tautomere :



(II) (III)

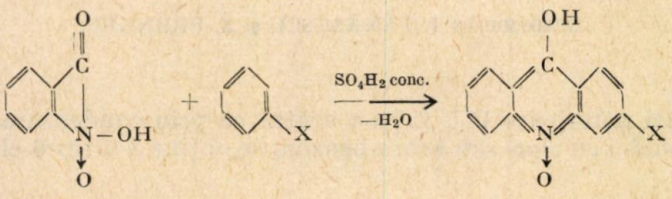
*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări la Sesiunea ştiinţifică a Universităţii „V. Babeş" şi „Bolyai", la 14 mai 1955.

Observăm că forma tautomeră (III) trecînd prin faza hidratată (IV), printr-o deshidratare ulterioară poate să conducă la o nouă formulare pentru *orto*-nitro-benzaldehidă (V):



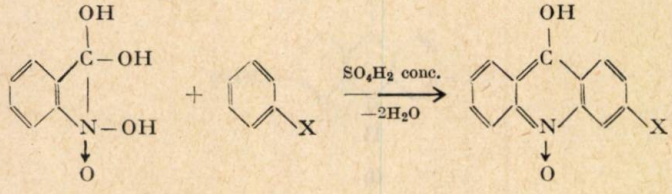
(III) (IV) (V)

Prin admiterea formulărilor tautomere (III) şi (IV) pentru *orto*-nitro-benzaldehidă se poate interpreta fără nici o dificultate [4], [5], [6] formarea derivaţilor de tip N-oxo-C-oxi-acridinici, sub acţiunea acidului sulfuric concentrat, după schemele



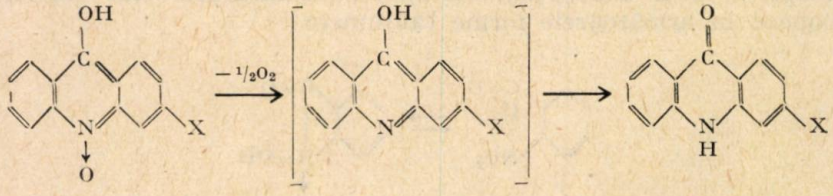
(III) (VI)

respectiv



(IV) (VI)

Aceşti derivaţi de tip N-oxo-C-oxi-acridinici (VI) elimină oxigenul N-oxidic, prin încălzire sau sub acţiunea acizilor minerali tari, formîndu-se în faza intermediară un acridol instabil, ce se izomerizează în acridona respectivă (VII)

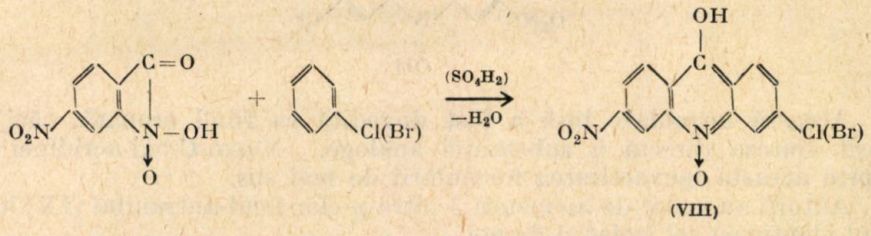


(VI) (VII)

Deoarece în lucrările noastre anterioare [1], [2] se susţinea că prin condensarea 2,4-dinitro-benzaldehidei cu clor- şi brom-benzen se obţin direct acridone, şi deoarece pe de altă parte încercările ulterioare ne-au arătat că se formează în realitate substanţe cu caracter fenolic, solubile

în alcalii și precipitabile cu acid, am reluat aceste condensări, ajungîndu-se la rezultatele arătate mai jos.

Prin condensarea 2,4-dinitro-benzaldehidei cu clor- respectiv brombenzen, în condițiile arătate la partea experimentală, se obține 3-nitro-6-clor-N-oxo-C-oxi-acridina, respectiv 3-nitro-6-brom-N-oxo-C-oxi-acridina (VIII) după ecuația :

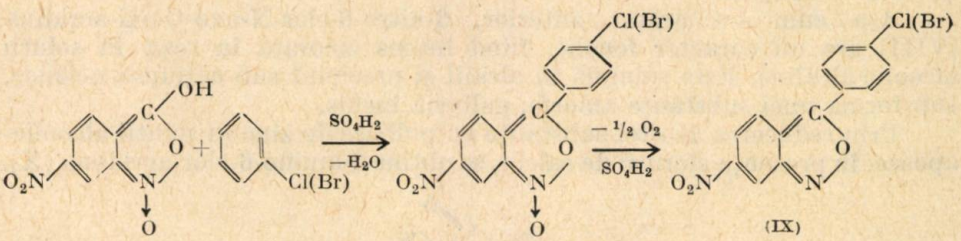


(VIII)

Produsul brut în cazul condensării cu clor-benzen se obține cu un randament de 62,6% față de 2,4-dinitro-benzaldehida intrată în reacție. Remarcăm că în cazul condensării cu brombenzen, randamentele sînt mai mici.

Din cercetarea amănunțită a acestui produs brut, s-a putut face dovada că el este format în realitate din cel puțin două substanțe, și anume : un N-oxo-C-oxi-derivat (VIII) alături de 3-nitro-*para*-clor (brom)-fenilantranil (IX).

Formarea antranililor (IX) se explică de asemenea neforțat [3] prin admiterea formei tautomere (V) a *o*-nitro-benzaldehidei, după schema



(IX)

Observăm deci că în prima fază ar urma să se formeze un N-oxo-fenilantranil (care însă nu a fost izolat) și prin eliminarea oxigenului N-oxidic, sub acțiunea acidului sulfuric, se formează antranilul propriu-zis (IX).

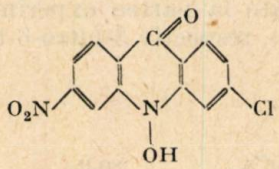
Separarea acestor două substanțe s-a putut face datorită diferenței de solubilitate în alcalii, benzen, și ester acetic (vezi partea experimentală).

Faptul că în lucrările anterioare unul din noi [1], [2] a arătat că în aceste condiții se obțin acridonele respective, se explică prin aceea că produsul brut era recristalizat din nitro-benzen, în scopul de a se obține substanță pură pentru analiză, astfel încît, la această temperatură ridicată avea loc eliminarea atomului de oxigen N-oxidic și formarea acridonei, după schema arătată anterior.

În lucrarea de față s-a dovedit experimental acest lucru, căci prin fierberea derivaților N-oxo-C-oxi-acridinici cu nitro-benzen se obțin acridonele corespunzătoare.

Menționăm că între timp, F. Bradbury și W. Linnel [7] au reluat sinteza noastră [1] arătînd că nu au obținut 3-nitro-6-clor-acridona,

(VIII) decît în urme, produsul principal fiind acela ce autorii numesc 3-nitro-6-clor-N-oxi-acridona, cu constituţia



Această formulare însă a fost dovedită ca fiind eronată, căci s-a reuşit sinteza directă a substanţei analoge, N-oxo-C-oxi-acridinei [6] şi prin aceasta inexactitatea formulării de mai sus.

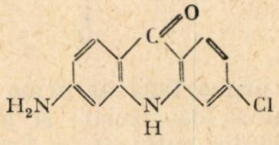
Autorii au izolat de asemenea 3-nitro-*p*-clor-fenil-antranilul (IX) întru totul identic cu cel izolat şi de noi.

Faptul că nu au obţinut ca produs principal 3-nitro-6-clor-acridona (I) se explică prin aceea că nu au recristalizat produsul brut din nitro-benzen, aşa cum s-a arătat mai sus.

O observaţie pe care o socotim ca fiind importantă este aceea că în aceste sinteze se formează derivaţi de tip N-oxo-C-oxi-acridinici, fie că condensarea are loc numai în prezenţa acidului sulfuric concentrat, fie că în această soluţie sulfurică se adaugă cantităţi apreciabile de nitrit de sodiu. Acest lucru este în discordanţă cu afirmaţia făcută de K. L e h m e s t e d t [8], care susţine că în prezenţa nitritului de sodiu se formează exclusiv acridone.

Aşa cum s-a arătat anterior, 3-nitro-6-clor-N-oxo-C-oxi-acridina (VIII) are un caracter fenolic, fiind intens colorată în roşu în soluţii alcoolic-alcaline. Este solubilă în alcalii şi precipită sub acţiunea acizilor, sub forma unei substanţe amorfe, galbenă închis.

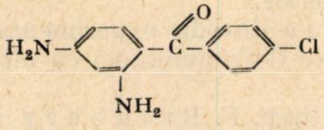
Prin reducerea acestei substanţe cu pulbere de zinc în soluţii alcoolic-apoase, în prezenţa clorurii de calciu, se obţine 3-amino-6-clor-acridona (X).



(X)

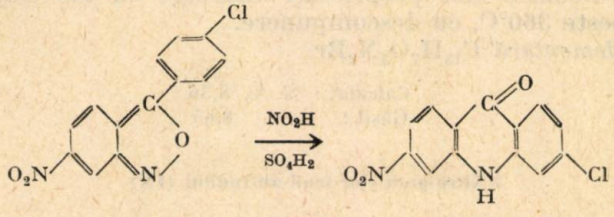
Această comportare este în perfect acord cu observaţiile făcute anterior, după care derivaţii N-oxo-C-oxi-acridinici, prin reducere în condiţii similare, dau naştere la acridone [4].

Prin reducerea, în aceleaşi condiţii, a 3-nitro-*p*-clor-fenilantranilului (IX) se obţine 2,4-diamino-4′-clor-benzofenona (XI), necunoscută în literatură, identificată prin comportări şi analiză elementară.



(XI)

Prin solvire în acid sulfuric concentrat și adaos de nitrit de sodiu, 3-nitro-*para*-clor-fenil-antranilul (IX) se izomerizează în 3-nitro-6-clor-acridona (I) după schema



(IX.) (I.)

PARTEA EXPERIMENTALĂ

3-Nitro-6-clor-N-oxo-C-oxi-acridina (VIII)

La o soluție de 5 g de 2,4-dinitro-benzaldehidă în 50 cc clor-benzen se adaugă 25 cm^3 acid sulfuric concentrat (D : 1,84). Amestecul format se lasă la temperatura camerei circa 24 de ore, agitînd cît mai des posibil. În vasul de reacție se formează în acest timp două straturi. Unul inferior, închis la culoare, și unul superior, galben deschis, format în mare parte din clorbenzenul în exces. Stratul superior clor-benzenic, se decantează, iar cel sulfuric se spală încă de 2—3 ori cu cîte 40—50 cm^3 clor-benzen, decantînd de fiecare dată stratul clor-benzenic. După spălare, soluția sulfurică se toarnă, agitînd, în circa 2 litri apă. Precipită imediat o masă brună vîscoasă. Produsul brut se filtrează și se usucă. Se obțin aproximativ 6,2 g produs brut.

Produsul brut se fierbe cu benzen (de două ori cu cîte 50 cm^3) pentru a separa 3-nitro-6-clor-N-oxo-C-oxi-acridina (VIII) insolubilă, de 3-nitro-*para*-clor-fenil-antranilul solubil (IX), care s-a format ca produs secundar în această reacție. Se obțin astfel, după uscare, 3,5 g N-oxo-C-oxi-derivat de culoare galbenă-brună. Produsul purificat prin recristalizare din acid acetic glacial se descompune și se carbonizează la 380—390 °C fără o topire prealabilă.

N-oxo-C-oxi-derivatul este solubil în alcool, iar prin adaos de alcalii, soluția alcoolică se colorează intens în roșu-vișiniu. Soluția alcoolică este galbenă-verzuie cu o foarte slabă fluorescență verde. În acid acetic se solvă la fierbere cu o coloratie roșie, iar prin răcire depune un precipitat galben-brun. Se solvă în acid sulfuric concentrat cu o coloratie galbenă, soluția nefiind fluorescentă. Este insolubil în ester acetic și benzen. Din soluția alcalină poate fi reprecipitat prin adaos de acid clorhidric 2 N. La microscop se prezintă ca un produs amorf, galben-brun.

Analiza elementară $C_{13}H_7O_4N_2Cl$

Calculat : N % 9,63
Găsit : 10,00

3-Nitro-6-brom-N-oxo-C-oxi-acridina (analog VIII)

A fost sintetizat ca și clor-derivatul (VIII), plecînd de la brom-benzen în loc de clor-benzen. Are proprietăți analoage cu ale clor-derivatului (VIII). P. t. peste 360°C, cu descompunere.

Analiza elementară $C_{13}H_7O_4N_2Br$

Calculat: N % 8,36
Găsit: 8,65

3-Nitro-para-clor-fenil-antranilul (IX)

La o soluție de 5 g dinitro-benzaldehidă, solvită în 50 cm³ clor-benzen, se adaugă 25 cm³ acid sulfuric concentrat (D : 1,84). Amestecul format se lasă 24 de ore la temperatura camerei, agitînd cît mai des posibil. Stratul inferior după decantarea stratului clor-benzenic, se toarnă în circa 2 litri de apă, formîndu-se un precipitat galben-brun. După filtrare, produsul brut uscat se extrage de mai multe ori cu 50 cm³ benzen. Soluțiile benzenice se evaporă la sec. Astfel se obțin circa 3,2 g de 3-nitro-*para*-clor-fenil-antranil brut (IX). Pentru purificare, produsul brut astfel obținut se recristalizează de 5—6 ori din ester acetic. Fenil-antranilul pur obținut este intens colorat în galben, cu punct de topire 215°C. Este insolubil în alcool la rece, greu solubil la cald cu o colorație galbenă-verzuie, insolubil în alcalii diluate și acid clorhidric 2 N. Este foarte solubil în benzen și ester acetic. E solubil în acid sulfuric cu o intensă fluorescență verde. La microscop se prezintă sub forma unor cristale aciculare de culoare galbenă deschisă.

Analiza elementară $C_{13}H_7O_3N_2Cl$

Calculat: N % 10,19
Găsit: 10,47

3-Nitro-para-brom-fenil-antranilul (analog cu IX)

Se obține după aceeași metodă ca și clor-derivatul, pornind însă de la brom-benzen. Proprietăți foarte asemănătoare cu ale clorderivatului (IX). P. t. este 211°C. La microscop se prezintă sub formă de ace fine, lungi, colorate intens în galben.

Analiza elementară $C_{13}H_7O_3N_2Br$

Calculat: N % 8,77
Găsit: 9,07

3-Amino-6-clor-acridona (X)

La 0,5 g de 3-nitro-6-clor-N-oxo-C-oxi-acridină se adaugă 50 cm³ apă fierbinte, 50 cm³ alcool etilic, 7,5 g pulbere de zinc și un grăunte mic de clorură de calciu. Amestecul este menținut în fierbere energică o oră și jumătate, după care se filtrează la cald. Prin răcire depune în filtrat 3-amino-6-clor-acridona (X), sub forma unui precipitat de culoare crem. Produsul brut obținut se recristalizează din soluție alcoolică apoasă. P. t. peste 360°C.

Se solvă la cald în alcool etilic cu puternică fluorescență violetă-albastră. Se solvă la cald, în acid clorhidric 2 N cu o colorație galbenă-verde. Prin adaos de alcool soluția acidă devine intens fluorescentă în verde. Este insolubilă în alcalii, se solvă în acid sulfuric concentrat, cu o intensă fluorescență albastră-verzuie. Se solvă în ester acetic și reprecipită prin adaos de benzină (70—100°). La microscop se prezintă ca o substanță amorfă de culoare crem.

Analiza elementară $C_{13}H_9ON_2Cl$

Calculat : N % 11,45
Găsit : 11,57

2,4-Diamino-4'-clor-benzofenona (XI)

Se tratează 0,2 g de 3-nitro-*para*-clor-fenil-antranil (IX) cu 20 cm³ apă fierbinte, 2 g pulbere de zinc, 5 cm³ alcool 95% și un grăunte mic de clorură de calciu. Amestecul se fierbe energic o oră și jumătate. După filtrare depune din soluția răcită 2,4-diamino-4'-clor-benzofenonă (XI), de culoare galbenă-crem. Se purifică prin recristalizări repetate din ester acetic. Produsul pur, de coloare galbenă-crem se topește la 198°C. Se solvă la rece în alcool cu o colorație galbenă-verzuie. La cald se solvă în acid clorhidric 2 N, prin adaos de alcalii reprecipită benzofenona. Se solvă în acid sulfuric concentrat, cu o colorație galbenă fără fluorescență. La microscop se prezintă sub formă de cristale mici, aciculare.

Analiza elementară $C_{13}H_{11}ON_2Cl$

Calculat : N % 11,34
Găsit : 11,35

3-Nitro-6-clor-acridona (I)

Acest produs a fost obținut pe două căi.

a) Prin izomerizarea 3-nitro-*para*-clor-fenil-antranilului (IX).

b) Prin reducerea 3-nitro-6-clor-N-oxo-C-oxi-acridinei (VIII).

a) Circa 0,1 g 3-nitro-*para*-clor-fenil-antranil (IX) pur a fost solvit în 4 cm³ acid sulfuric concentrat, s-a adăugat un vîrf de spatulă de nitrit de sodiu și soluția clară obținută a fost lăsată în repaus circa 10 ore la temperatura camerei. După acest timp soluția sulfurică a fost turnată în 200 cm³ apă. Depune un precipitat galben floconos de 3-nitro-6-clor-acridonă (I), amestecat cu fenil-antranilul nereacționat. Pentru a purifica produsul, se fierbe cu ester acetic, care solvă antranilul, acridona rămînînd nesolvită. Acridona astfel purificată este puțin solubilă în soluție alcoolic-alcalină cu o colorație roșie deschisă (cu mult mai deschisă decît a N-oxo-C-oxi-derivatului). Se solvă în alcool la cald cu o colorație galbenă-verzuie. E insolubilă în benzen și ester acetic. Se solvă în acid sulfuric concentrat cu o fluorescență intensă verde închis. La microscop se prezintă sub forma unei substanțe amorfe colorate intens în galben.

b) Se fierbe 0,5 g N-oxo-C-oxi-3 nitro-6-clor-acridină (VIII) cu 50 cm³ nitro-benzen, circa 2 ore. O parte din substanță se solvă în nitro-benzen din care, după filtrare, se reprecipită cu benzină (70—120°). Pentru purificare produsul brut este fiert cu alcool etilic 95%, pe urmă cu acid acetic glacial și cu benzen. După aceste purificări rămîne un produs de culoare

galbenă-închis, insolubil în benzen, ester acetic, acid acetic glacial, foarte puţin solubil în alcool.

Acridonele obţinute pe aceste două căi au comportări identice şi în perfectă concordanţă cu structura atribuită.

Laboratorul de chimie organică „V. Babeş", al Universităţii Cluj

Prezentat la redacţie la 14 ianuarie 1956

ОБ АКРИДОНАХ (XV).
КОНДЕНСАЦИЯ 2,4-ДИНИТРОБЕНЗАЛЬДЕГИДА С ХЛОР - И БРОМБЕНЗОЛОМ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

В результате конденсации 2,4-динитробензальдегида с хлором или бромбензолом образуется 3 - нитро - 6 - хлор (бром) - N - оксо - C - оксит акридин (VIII), наряду с 3-нитро-хлор (бром)-фенилантранилом (IX), а не 3-нитро-6 - хлор - акридоном (I), как это утверждалось в предыдущих работах [1] и [2].

Отмечается, что и в присутствии нитрита натрия не образуется 3 - нитро-6 - хлоракридон (I), вопреки утверждениям, встречающимся в литературе[8] для аналогичных случаев.

SUR LES ACRIDONES (XV)
CONDENSATION DE LA DINITRO-2,4-BENZALDÉHYDE AVEC LE CHLORO- ET LE BROMOBENZÈNE

(RÉSUMÉ)

Par la condensation de la dinitro-2,4-benzaldéhyde avec le chloro- ou le bromobenzène il se forme de la nitro-3 chloro-6/bromo/-N-oxo-C-oxyacridine (VIII) à côté du nitro-3 parachloro (bromo) phénylanthranile (IX), et non pas de la nitro-3 chloro-6 acridone (I) comme cela a été affirmé dans les travaux antérieurs [1] et [2].

Les auteurs ont précisé que pas même en présence du nitrite de sodium il ne se forme de la nitro-3 chloro-6-acridone (I), contrairement aux affirmations de la bibliographie [8] dans des cas analogues.

BIBLIOGRAFIE

1. I. TĂNĂSESCU, Bull, Soc. Chim. France, 4e Série, **41**, 528 (1927).
2. I. TĂNĂSESCU, M. MACAROVICI, Bull. Soc. Chim. France, 4e Série **53**, 372, (1933).
3. I. TĂNĂSESCU, E. RAMONTEAN, Bull. Soc. Chim. France, 4e Série, **51**, 381, (1933).
4. — Bull. Soc. Chim. France, 5e Série, **1**, 547 (1934).
5. — Ber., **69**, 1825 (1936).
6. — Bull. Soc. Chim. France, 5e Série, **3**, 2009 (1936).
7. F. BRADBURY, W. LINNEL, J. Chem. Soc. London, (1942), 377—381. iunie
8. K. LEHMESTEDT, Ber,. **65**, 834 (1932).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

APARAT SIMPLU PERMIŢÎND DETERMINAREA VISCOZITĂŢII ŞI A TENSIUNII SUPERFICIALE RELATIVE A LICHIDELOR BIOLOGICE *)

DE

ACADEMICIAN RADU VLĂDESCU
MEMBRU ONORIFIC AL ACADEMIEI R.P.R.

Metodele de investigaţie fizico-chimice sînt din ce în ce mai utilizate în cercetările biologice — îndeosebi de clinica medicală.

Una din aceste metode constă în măsurarea viscozităţii, care se aplică azi în mod curent, pentru determinarea activităţii hialuronidazei izolată din diverse ţesuturi de origină animală.

În cercetările biologice, nu valoarea coeficientului de viscozitate este interesantă, ci viscozitatea relativă (sau specifică), adică raportul dintre coeficientul de viscozitate al lichidului de cercetat şi acel al apei distilate, a cărei valoare este luată în mod convenţional egală cu 1 (valoarea coeficientului de viscozitate al apei exprimat în poise este de 0,01 la temperatura de 20°).

Principiul metodei de măsură este următorul : un volum determinat din lichidul de cercetat este lăsat să se scurgă printr-un tub capilar sub o anumită temperatură.

Volumul de lichid scurs depinde de coeficientul de viscozitate al acelui lichid, de diametrul şi de lungimea tubului capilar, de forţa care pune lichidul în mişcare şi de temperatură.

Între aceşti factori Poiseuille a stabilit următoarea relaţie : $D = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot P \cdot t}{8 \cdot \eta \cdot l}$ în care D reprezintă volumul de lichid scurs, η coeficientul de viscozitate, r — raza tubului capilar, l — lungimea acestui tub, P — presiunea sub influenţa căreia se produce scurgerea şi t — timpul de scurgere. Din această relaţie se poate deduce valoarea coeficientului de viscozitate.

Formula nu este însă valabilă decît sub anumite condiţii (viteza de scurgere să nu depăşească o anumită limită, lungimea tubului capilar să fie mai mare decît o limită variabilă cu diametrul (cu un tub capilar

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 27 februarie 1956.

avînd diametrul de 0,5 mm, lungimea trebuie să fie de cel puțin 150 mm). Fiind însă vorba de viscozitatea specifică, cu același aparat și în aceleași condiții se repetă experiența cu apă distilată. Același debit D, în cazul apei, este egal cu $D = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot P_a \cdot t_a}{8 \cdot \eta_a \cdot l}$ unde P_a, η_a, t_a reprezintă presiunea, coeficientul de viscozitate și timpul în cazul apei.

Din aceste relații rezultă că $\frac{\eta}{\eta_a} = \frac{P \cdot t}{P_a \cdot t_a}$ și fiindcă presiunea este proporțională cu produsul între diferența de nivel (aceeași în ambele experiențe) și d, d fiind densitatea lichidului de cercetat

$$\frac{\eta}{\eta_a} = \frac{P}{P_a} \frac{t}{t_a} = d \cdot \frac{t}{t_a} \cdot \qquad (1)$$

★

Aparatul cel mai des utilizat în cercetările biologice pentru o atare măsură este viscozimetrul Ostwald. În cazul sîngelui, viscozimetrul *Hess* este mai indicat pentru următoarele motive :

1) Cantitatea de sînge necesară este foarte mică — cîteva picături.

2) Manipulația reclamă un timp scurt în care măsurătoarea poate să fie făcută înainte de coagularea sîngelui.

Inconvenientul acestui aparat constă în aceea că el este foarte fragil.

La viscozimetrul Ostwald este de observat că presiunea sub care se face scurgerea lichidului este variabilă de la începutul pînă la sfîrșitul experienței.

Cu dispozitivul propus de noi aceste obiecții nu mai sînt valabile.

1) Scurgerea lichidului sub presiune constantă este realizată utilizînd vasul lui Mariotte.

2) Aparatura este robustă.

Iată dispozitivul utilizat în acest scop : un mic vas de sticlă, avînd forma unei pîlnii de separație, are tubul tras în capilar. Prin orificiul de la extremitatea opusă care este șlefuit la interior, se introduce un tub-pipetă șlefuit la exterior astfel încît să închidă perfect acest orificiu și extremitatea introdusă în vas să ajungă cît mai aproape de începutul tubului capilar. Extremitatea opusă a tubului-pipetă poate să fie închisă fie cu un dop de sticlă șlefuit, fie cu un tub de cauciuc prevăzut cu o pensă de presiune.

Vasul astfel pregătit se fixează cu ajutorul unui dop de cauciuc perforat în gura unui flacon de sticlă cît mai mare al cărui fund a fost ridicat.

În flacon se introduce atîta apă încît vasul să fie aproape în întregime acoperit cu acest lichid.

Temperatura apei din balon poate fi potrivită și menținută constantă avînd la îndemînă, în lipsă de un termoregulator, apă caldă și apă rece.

★

Cu această aparatură se poate determina tensiunea superficială a lichidelor biologice, adică raportul între tensiunea superficială a lichidului de cercetat și aceea a apei distilate. Pentru o mai ușoară înțelegere a acestei chestiuni este necesar să reamintim cîteva noțiuni relative la măsurarea tensiunilor superficiale :

După legea lui T a t e există proporționalitate între greutatea unei picături de lichid și tensiunea superficială a lui. Însemnînd cu σ tensiunea superficială pe unitatea de lungime a lichidului avînd densitatea d și care se scurge sub formă de picături printr-un tub capilar cu raza r, valoarea tensiunilor superficiale pe lungimea $2 \cdot \pi \cdot r$ va fi $2 \cdot \pi \cdot r \cdot \sigma$. Fie n numărul de picături dat de volumul V din acel lichid. Greutatea acestui volum fiind $V \times d \times g$ (g = accelerația gravității), greutatea unei singure picături va fi $\frac{V \times d \times g}{n}$. Conform legii amintite mai sus

$$2 \cdot \pi \cdot r \cdot \sigma = \frac{V \cdot d \cdot g}{n} \cdot$$

Dacă un același volum de apă, în aceleași condiții dă n_a picături $2 \cdot \pi \cdot r \cdot \sigma_a = \frac{V \cdot g}{n_a}$ (σ_a reprezintă tensiunea superficială a apei).

Din această relație se vede că tensiunea superficială relativă este dată de formula

$$\frac{\sigma}{\sigma_a} = d \times \frac{n_a}{n} \cdot \qquad (2)$$

Divizînd relația (1) prin (2) se obține o funcție independentă de densitate

$$\frac{n}{n_a} \times \frac{\sigma_a}{\sigma} = \frac{t}{t_a} \times \frac{n}{n_a} \cdot$$

Aparatul utilizat în prezent, în cercetările biologice bazat pe metoda picăturilor, este stalagmometrul lui Traube. În ceea ce privește presiunea sub care se formează picăturile, aceeași obiecție se poate face ca la viscozimetrul Ostwald. Cu dispozitivul Mariotte însă presiunea poate fi menținută constantă în tot timpul experienței.

Institutul de cercetări zootehnice, București

Prezentat la redacție la 4 februarie 1956

ПРОСТОЙ ПРИБОР, ПОЗВОЛЯЮЩИЙ ОПРЕДЕЛЯТЬ ВЯЗКОСТЬ И ОТНОСИТЕЛЬНОЕ ПОВЕРХНОСТНОЕ НАТЯЖЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Предлагается технический метод измерения удельной вязкости и относительного поверхностного натяжения биологических жидкостей.

Этот метод представляет следующие преимущества по сравнению с применяемыми методами:

1. Необходимая аппаратура отличается простотой, прочностью и экономичностью (может быть изготовлена в стране).

2. Обращение с аппаратурой легкое, и она может применяться где угодно.

Предлагаемый прибор может быть назван тенсиовискозиметром.

APPAREIL SIMPLE POUR DÉTERMINER LA VISCOSITÉ ET LA TENSION SUPERFICIELLE RELATIVE DES LIQUIDES BIOLOGIQUES

(RÉSUMÉ)

L'auteur propose un procédé pour mesurer la viscosité spécifique et la tension superficielle relative des liquides biologiques.

Ce procédé présente les avantages suivants, par rapport aux méthodes usuelles :

1. L'outillage nécessaire est simple, robuste et économique vu qu'il peut être fabriqué en Roumanie.

2. Les manipulations sont faciles et peuvent être exécutées n'importe où.

L'appareil préconisé peut être désigné sous le nom de tensio-viscosimètre.

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

TENSIOVISCOZIMETRUL APLICAT LA CONTROLUL LAPTELUI*)

DE

ACADEMICIAN RADU VLĂDESCU
MEMBRU ONORIFIC AL ACADEMIEI R.P.R.
şi ANGELA CIOCOIU

Avînd la dispoziţie o aparatură simplă şi uşor de procurat, cu care se poate determina într-un interval de timp redus, atît viscozitatea specifică, cît şi tensiunea superficială relativă a lichidelor biologice, ne-am propus să cercetăm dacă aceste măsurători s-ar putea aplica cu folos în controlul laptelui, fără a se mai recurge la metode chimice, mai complicate şi mai costisitoare.

În acest scop am utilizat tensioviscozimetrul descris în comunicarea anterioară.

Aparatura necesară. În afară de tensioviscozimetru mai sînt necesare : un termometru divizat în cincimi de grad, între 0 şi 100 grade, un cronometru cu diviziuni de o jumătate de secundă, o seringă de 2 cm^3 cu diviziuni de 0,04 cm^3, un tub de centrifugă conic şi alcool octilic.

Tehnica de lucru. În vasul în formă de pîlnie de separaţie se introduc 2,5 cm^3 lapte.

Se adaptează tubul-pipetă închis la capătul din afară. Se potriveşte temperatura apei din flacon şi cînd ea nu mai variază, se stabileşte comunicaţia cu exteriorul destupînd extremitatea tubului-pipetă. De îndată ce bulele de aer încep să se degaje în masa lichidului, se culege în tubul de centrifugă un număr determinat de picături. Numărătoarea începe imediat după căderea picăturii precedente. În acelaşi moment se declanşează cronometrul care este oprit imediat ce ultima picătură a căzut.

S-a determinat astfel timpul necesar pentru scurgerea unui număr determinat de picături.

Volumul lichidului cules se măsoară cu seringa al cărei ac a fost în prealabil introdus în alcool octilic. Rostul acestei operaţii este ca să se evite formarea de spumă în care caz se fac greşeli importante la măsurătoarea volumului. Experienţa se repetă în aceleaşi condiţii cu apa.

---

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 27 februarie 1956.

O dată cunoscute aceste date : numărul de picături, volumul lichidului cules şi timpul în care s-a scurs, se poate uşor calcula viscozitatea specifică, tensiunea superficială şi raportul dintre ele.

★

Pentru măsurarea viscozităţii specifice dată de formula $\frac{\eta}{\eta_a} = d \cdot \frac{t}{t_a}$ (în care η reprezintă coeficientul de viscozitate al laptelui ; η_a, coeficientul de viscozitate al apei ; d, densitatea laptelui, t, timpul de scurgere al laptelui ; t_a, timpul de scurgere al unui volum egal de apă) trebuie calculate timpurile necesare pentru culegerea volumelor egale de lapte şi apă.

Iată un exemplu : 20 de picături de lapte cu un volum total de 1,08 cm³ au fost culese în 20 de secunde ; 20 de picături de apă cu un volum total de 1,60 cm³ au fost culese în 17 secunde.

Volumul de 1,08 cm³ apă va fi cules în $\frac{17 \times 1,08}{1,6} = 11,4$ s.

Viscozitatea specifică este deci $\frac{20}{11,4} \times d = 1,74\ d.$

La acelaşi rezultat se ajunge cu următorul calcul :
Volumul de 1,08 cm³ lapte a fost cules în 20 de secunde.
Volumul de 1,60 cm³ apă a fost cules în 17 secunde.

Volumul de 1,60 cm³ lapte va fi cules în $\frac{20 \times 1,6}{1,08} = 29,63$ s.

Viscozitatea specifică este deci $\frac{29,63}{17} \times d = 1,74\ d.$

Pentru măsurarea tensiunii superficiale dată de formula $\frac{\sigma}{\sigma_a} = d \times \frac{n_a}{n}$ (în care σ reprezintă tensiunea superficială a laptelui, σ_a, tensiunea superficială a apei ; d, densitatea laptelui ; n, numărul de picături dat de un volum anumit de lapte ; n_a, numărul de picături dat de un volum egal de apă) trebuie calculate numerele de picături date de volume egale, de lapte şi apă.

În experienţa precedentă, în volumul de 1,08 cm³ lapte au fost 20 de picături, iar în volumul de 1,60 cm³ apă au fost tot 20 de picături, atunci în volumul de apă de 1,08 vor fi $\frac{20 \times 1,08}{1,6} = 13,5$ picături.

Tensiunea superficială este deci $\frac{13,5}{20} \times d = 0,675\ d.$

La acelaşi rezultat se ajunge cu următorul calcul :
în volumul de 1,08 cm³ lapte au fost 20 picături ;
în volumul de 1,60 cm³ apă au fost 20 picături ;
în volumul de 1,60 cm³ lapte vor fi $\frac{20 \times 1,6}{1,08} = 29,63$ picături ; tensiunea superficială este deci $\frac{20}{29,63} \times d = 0,675\ d.$

Raportul între viscozitate şi tensiunea superficială este

$$\frac{1,74}{0,675} = 2,58.$$

Din cercetările întreprinse pînă în prezent în această direcţie rezultă că măsura viscozităţii specifice şi a tensiunii superficiale relative a lapte-

lui poate să dea prețioase indicații în privința valorii acestui produs biologic.

În sprijinul acestei afirmații dăm aici următorul exemplu:

Dintr-un lapte avînd un conținut de grăsime de 5,3% s-au cules 20 de picături avînd un volum total de 1,22 cm^3 în 24,6 secunde.

Din laptele diluat cu apă, în proporție de 10%, s-au cules 20 de picături avînd un volum de 1,24 în 22,4 secunde.

Cu același lapte diluat în proporția de 20% s-au cules 20 de picături cu un volum total de 1,28, în 21 secunde.

Apa a dat 20 de picături cu un volum total de 1,68 în 19 secunde.

Valorile corespunzătoare viscozităților, tensiunilor superficiale și raporturilor dintre ele sînt:

pentru viscozitate 1,78 d; 1,59 d; 1,45 d;

pentru tensiunea superficială 0,724 d; 0,738 d; 0,763 d;

iar pentru raportul $\frac{\text{viscozitate}}{\text{tensiune}}$: 2,46; 2,15; 1,90.

Rezultă de aici că viscozitatea scade cu diluția, pe cînd tensiunea superficială crește. Scăderea este mai evidentă la raportul dintre ele.

Pentru a putea stabili valorile între care pot să varieze, în condiții normale, acești factori, ne propunem să extindem cercetările la un număr cît mai mare de animale.

Institutul de cercetări zootehnice, București

Prezentat la redacție la 4 februarie 1956.

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕНСИОВИСКОЗИМЕТРА ДЛЯ ПРОВЕРКИ КАЧЕСТВА МОЛОКА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

1. Определение удельной вязкости и поверхностного натяжения молока позволяет быстро установить качество этого биологического продукта.

2. Это определение производится легко при помощи описанного тенсиовискозиметра.

3. Этот способ определения рекомендуется в особенности там, где химические методы анализа не могут быть применены.

APPLICATION DU TENSIOVISCOSIMÈTRE AU CONTRÔLE DU LAIT

(RÉSUMÉ)

1. La détermination de la viscosité spécifique et de la tension superficielle relative du lait permet l'appréciation rapide de la qualité de ce produit biologique.

2. Effectuées avec le tensioviscosimètre décrit, ces déterminations sont d'une exécution facile.

3. Ces déterminations sont surtout indiquées là où les analyses chimiques ne peuvent pas être effectuées.

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

CONTRIBUŢII LA STUDIUL VACCINURILOR ANTITIFO-PARATIFICE DIN EXTRACTE MICROBIENE

II. STUDIUL CHIMIC COMPARATIV AL UNOR ANTIGENE SOMATICE EXTRASE DIN *S. TYPHI*

DE

E. SORU
MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.
C. BARBER, S. TOMA, V. GRIŢAENCO şi B. BOGOKOWSKI

Obţinerea din B. tifici a unei componente antigenice care să posede maximum de imunogenitate şi minimum de toxicitate a fost şi mai este încă una din preocupările de bază în problema imunizării contra febrei tifoide.

Numărul foarte mare de cercetări mai vechi şi chiar recente, nu au dus la rezolvarea deplină a acestei probleme şi impune continuarea şi adîncirea cercetărilor.

Studiul corelaţiei între structura chimică a extractelor microbiene şi caracterul lor biologic, este desigur una din căile care ar putea contribui la rezolvarea acestei probleme. Toate cercetările din domeniul antigenelor extrase din grupa Salmonellelor, au dus la confirmarea existenţei unei fracţiuni poliozidice ca purtătoare a caracterului de specificitate [6], [13], [18], [31], [32], [37], [44], [46], ceea ce stabileşte dintr-o dată dependenţa dintre o componentă structurală bine definită din complexul antigenic şi unul din caracterele biologice cele mai importante ale acestui complex : specificitatea. Fracţiunea poliozidică pură, se ştie însă, că nu poate funcţiona decît în anumite cazuri excepţionale ca antigen complet, proprietatea de a funcţiona ca atare fiind dependentă de o structură mai complexă, din care poliozidul, în cadrul acestui complex, determină caracterul de specificitate.

Antigenul complet izolat din germenii Gram negativi şi respectiv din germenii din grupa Salmonellelor conţine pe lîngă poliozidul specific, componente lipidice [6] şi proteice [53], constituind sisteme complexe „simplexe" [53], cu caracter mai mult sau mai puţin toxic şi pirogen, în funcţie de componentele din complex şi de proporţiile lor relative, în acest complex, acestea la rîndul lor fiind condiţionate de metoda de extracţie. Diversele procedee de extracţie au dus în adevăr la izolarea unor complexe de componenţă diferită, cu un conţinut variabil în proteine şi lipide, unele conţinînd şi acizi nucleici, dar toate incluzînd şi o aceeaşi

componentă comună poliozidică ca determinant haptenic al specificităţii imunochimice.

La germenii gram negativi polizaharidul specific s-ar afla la suprafaţa bacteriei ancorat la diverse componente de structură lipidică, proteică, nucleoproteică, diverşii agenţi de extracţie desfăcînd poliozidul din această reţea în puncte diferite de ancorare. Simplexul eliberat va conţine sau nu, totalitatea componentelor de care este fixat în celula bacteriană şi în funcţie de condiţiile de extracţie, proporţii variabile ale acestor componente. Simplexele rezultate vor avea caracterul de specificitate comun, determinat de componenta comună poliozidică şi vor avea proprietăţi antigenice, toxice, pirogenice etc. diferite, în funcţie de celelalte componente ale simplexului. Totalitatea proprietăţilor biologice va fi determinată de natura şi de raporturile componentelor complexului, de predominanţa uneia sau alteia din componente, precum şi de starea de denaturare a acesteia. Datele noastre experimentale confirmă această interpretare susţinută de o serie de autori [7], [8]. Datele chimice expuse în lucrarea de faţă şi datele biologice redate în lucrarea anterioară, relative la complexele antigenice obţinute din B. tifici, cu ajutorul a două metode de extracţie diferite, evidenţiază în chip net aceste afirmaţii.

Înainte de a expune rezultatele şi metodele folosite de noi vom da un scurt istoric al rezultatelor obţinute în această problemă de diverşi autori.

Metoda extracţiei cu acid tricloracetic 0,2 N la rece [6] eliberează din celula microbiană, un complex antigenic, constituit conform datelor din literatură în chip predominant dintr-un poliozid specific, la care este ancorată o fracţiune lipoidică şi o fracţiune azotată, aceasta din urmă în proporţie redusă. Complexul astfel izolat este suportul antigenului somatic şi are caracter puternic toxic [6]. Metoda extracţiei după digestie triptică [32], [33] a corpilor microbieni, duce la un complex antigenic cu un conţinut în azot mai mare decît complexul extras cu acid tricloracetic. Cercetări chimice mai extinse, indică şi alte diferenţe de ordin chimic şi biologic între complexele obţinute prin aceste două procedee [37]. Extracţia germenilor cu fenol [34], [18], cu amestecul fenol-apă [51], duce de asemenea la izolarea unor complexe lipopolizaharidproteinice cu caracter antigenic. Extracţii antigenice şi toxice se obţin cu amestecuri de piridină-apă [19], cu soluţii de uree 2,5 M [47], cu dietilenglicol [32], [33], prin acţiuni fizice (cu ajutorul ultrasunetelor) [11]. Cu ajutorul unor metode mai puţin agresive s-a reuşit de asemenea izolarea unor complexe cu caracter de antigen total. Astfel, din B. coli s-au extras aceste antigene cu apă distilată la temperatura laboratorului sau la cald [41], de asemenea cu soluţii de clorură de sodiu 0,9% la rece [48], cu acid clorhidric 0,1 N [26].

PARTEA EXPERIMENTALĂ

MATERIAL ŞI METODE

Tulpinile folosite sînt următoarele: *S. Typhi* Ty_2 (O, Vi, H); *S. Typhi* O_{901}(O); *S. Typhi* Vi I (O urme, Vi, H urme); *S. Typhi* 58 (O urme, Vi, H moderat); *S. Typhi* A [1155/44 (O, Vi, H), tip bacteriofagic A]; *S.*

Typhi B [6772/259 (O, Vi, H), tip bacteriofagic M]; *S. Thyphi* C [1107/36 (O, Vi, H, rezistent)]; *S. Typhi* D [1105/35 (O, Vi, H), tip bacteriofagic E_1].

Metodele de extracție ale complexului antigenic

Corpii microbieni cultivați pe geloză (agar-agar 4%, peptonă Martin + macerat de carne, pH = 7,4 — 7,2), sînt emulsionați în ser fiziologic și spălați de două ori cu apă distilată (separare centrifugală). Depozitul microbian este reluat în acetonă, menținut ca atare 24 de ore; după acest interval se separă prin filtrare, se spală cu acetonă și ulterior cu eter, se usucă în vid. Germenii astfel uscați sînt folosiți pentru extracția complexului antigenic prin diversele metode.

Sub forma astfel uscată, germenii se pot menține vreme îndelungată fără pierderea capacității de eliberare a complexului antigenic.

1. *Metoda extracției apoase la 80°C.* Germenii uscați prin acetonare sînt emulsionați în apă distilată, în proporție de 3 g la 100 cm^3; emulsia este menținută ca atare 24 de ore la +4°C pentru o mai bună permeabilizare a membranei celulare. După acest interval se introduce vasul conținînd suspensia microbiană, într-o baie de apă la 80°C, în care este menținută 60 de minute [41]. După acest interval este răcită la temperatura camerei, supusă centrifugării la 10 000 rot/min. Supernatantul slab verzui și opalescent este supus dializei 48 de ore la apă curgătoare și 24 de ore față de apă distilată (+4°C). După scoaterea de la dializă se efectuează o nouă centrifugare la 10 000 rot/min pentru îndepărtarea particulelor mai mari, care uneori se formează, după dializă. Supernatantul are aspect incolor și puternic opalescent constituind o suspensie coloidală foarte omogenă și stabilă în timp. Sterilizarea extractelor antigenice astfel obținute se realizează prin tindalizare (încălzire 60 minute la 58—68°C), de 3 ori la interval de 24 de ore. Se păstrează în fiole, fără o modificare a aspectului de dispersiune omogenă, timp îndelungat, în special cînd densitatea suspensiei nu depășește anumite limite. Încercări comparative de extracții la temperaturi mai joase de 80°C, sau mai mari de 80°C nu sînt favorabile. În adevăr, la 70°C randamentul este mai scăzut, iar la temperaturi mai mari (90—100°C), are loc o denaturare a substanței extractibile, care se manifestă printr-o alterare a omogenității suspensiei coloidale, printr-o tendință marcată de a forma agregate de dimensiuni mari și depunerea acestor agregate pe fundul fiolei.

2. *Metoda extracției cu acid clorhidric la cald.* Germenii uscați prin acetonare se tratează cu acid clorhidric N/4, în proporția de 10 g la 150 cm^3. Emulsia acidă se menține 40 de minute pe baie de apă la 90°C, agitînd mereu. După răcire se neutralizează cu soluție NaOH, se centrifughează la 10 000 rot/min, supernatantul ușor opalescent este supus dializei 24 de ore față de apă curgătoare și 24 de ore față de apă distilată. Dializatul este supus din nou centrifugării la 10 000 rot/min. Sterilizarea se face în general prin trecere prin Seitz EK, deoarece sterilizarea prin tindalizare duce uneori la o modificare a stării de dispersiune coloidală a extractului.

Pentru studiul comparativ din toate tulpinile cărora li s-au aplicat aceste metode, s-a extras și antigenul tricloracetic cu ajutorul metodei Boivin-Mesrobeanu, aceasta pentru o informare comparativă asupra

proprietăților biologice (antigenice, toxice etc.) și chimice ale complexelor dependente de metoda de extracție a acestora.

Înainte de a expune datele chimice care caracterizează aceste extracte, semnalăm cîteva date biologice importante caracteristice ale acestora, date care sînt expuse pe larg în prima parte a lucrării noastre [54] și care relatează studiul proprietăților biologice ale acestor extracte antigenice.

1. Extractele obținute prin metodele descrise, au caracter de antigen complet.

2. Antigenul obținut prin extracția apoasă la cald are o toxicitate medie mai mică decît a antigenului tricloracetic izolat din aceeași tulpină. Antigenul clorhidric obținut prin extracție la cald cu acid clorhidric este aproape complet lipsit de toxicitate.Modificarea condițiilor de extracție legate de concentrarea acidului, durata de contact cu acidul și temperatura de extracție, modifică caracteristicile biologice ale acestui extract.

3. În complexul antigenic izolat prin metoda extracției la cald cu acid clorhidric, nu se pune biologic în evidență decît antigenul Vi, chiar dacă germenele de plecare conține în complexul său și antigenul O și H. Condițiile de extracție indicate sînt în acest sens determinante, deoarece o scădere a concentrației în acid clorhidric, a temperaturii sau a duratei de contact, lasă în extractul antigenic, alături de antigenul Vi și proporții variabile de antigen O și H. Distrugerea selectivă a antigenului O de către acidul clorhidric a fost semnalată și de alți autori [2], [45] și este un fapt deosebit de interesant.

4. Extracția apoasă la cald izolează nealterate din germene, totalitatea tipurilor de antigen existente în germenele respectiv (O, H, Vi), în proporții anumite. Diferențele biologice semnalate pun dintr-o dată problema corelației dintre structura chimică a acestor complexe antigenice și proprietățile lor biologice.

Metodele de analiză chimică folosite

Azotul total este determinat prin distilarea (Parnasse-Wagner) după microkjeldalizare. Rezultatele sînt redate în tabloul nr. 2.

Substanțele reductoare sînt determinate prin metoda Hagedorn-Jensen după hidroliza acidă (5 ore HCl N/1, pe baie de apă). Rezultatele sînt exprimate în glucoză la 100 g substanță extractibilă totală (tabloul nr. 1).

Lipidele totale se determină prin extracție eterică a hidrolizatelor de 8 ore cu acid clorhidric N/1 (tabloul nr. 9).

Fosforul total este determinat cu metoda Briggs [24] după distrugerea substanței organice (cu acid clorhidric, tabloul nr. 8), substanțele minerale după incinerare. *Acizii nucleici totali* prin metoda precipitării cuprice [42]. *Acidul dezoxiribonucleic* cu metoda Dische [14] (tabloul nr. 7). *Acidul ribonucleic* este calculat din diferența între acizii nucleici totali și acidul dezoxiribonucleic (tabloul nr. 7). *Cromatografia aminoacizilor* —aminoacizii din componenta proteică se determină calitativ și cantitativ prin cromatografie de partiție pe hîrtie de filtru. După hidroliza extractelor antigenice cu acid clorhidric 6 N la 100°, 24 ore, hidroliza se face în fiole închise ; HCl este îndepărtat prin evaporare (în vid) pînă la uscare, reziduul este reluat după evaporări succesive de 3 ori cu apă distilată. Soluția

finală în apă distilată este adusă la pH=7 cu NaOH. Hidrolizatul astfel obținut este folosit pentru determinarea calitativă și cantitativă pe cale cromatografică a aminoacizilor din extractul antigenic. Se folosește pentru cromatografie hîrtia Watman nr. 1. Se lucrează monodimensional cu amestecul butanol-acid acetic-apă [35] și bidimensional cu fenol-apă pe o direcție și butanol-acid acetic-apă pe a doua direcție. Se pune în paralel pe aceeași foaie de hîrtie harta aminoacizilor cunoscuți, deoarece criteriul valorilor R_f variază în limite destul de largi cu condițiile experimentale. Separarea cromatografică optimă trebuie stabilită în probe preliminare, în funcție de fiecare hidrolizat antigenic și pentru fiecare din aceste hidrolizate în condiții variate în raport cu concentrarea absolută a fiecărui aminoacid din hidrolizat, în funcție de R_f aminoacidului respectiv. Numai modificarea bine eontrolată a condițiilor de cromatografie în funcție de concentrarea fiecărui aminoacid din amestec, poate realiza o separare eficace și a aminoacizilor cu R_f apropiate, ca de exemplu aminoacizii din grupa lizină-histidină-arginină; grupa glicocol-acid aspartic — serină; grupa valină — metionină; grupa acid glutamic —treonină. Durata de irigare trebuie de asemenea variată în raport cu R_f aminacizilor ce urmează a fi identificați și dozați. Uscarea foilor de hîrtie se efectuează la 90°C, pulverizarea se face cu o soluție ninhidrină 0,5% în butanol, urmată de uscarea la etuvă sau la temperatura camerei. Pentru aminoacizii care au reacții caracteristice, se folosesc reactivii specifici, de exemplu pentru prolină; isatina (0,2% în n-butanol—4%-acid acetic glacial), pentru histidină reactivul Pauli [1]. Pentru arginină reactivul Sakaguchi [27]. Pentru separarea argininei de lizină, amestecul: metanol-apă-dimetilamină (80 :20 :0,1) s-a dovedit eficace. Se confirmă de asemenea datele din literatură că folosirea lichidelor de irigare tamponate și a hîrtiei tamponate, duce la rezultate uneori mai bune [16], [17]. Amestec părți egale fenol (redistilat)—tampon pH = 1,0 separă cistina, alanina, tirosina, valina, metionina (în ordine crescîndă a valorilor R_f).

Lutidina (pH = 6,2) (soluția lutidinei saturată cu o soluție 0,022 M soluție tampon, pH = 6,2) separă bine lisina de arginină.

O-Crezolul, pH = 6,2 [O-crezol părți egale cu tampon pH = 6,2 (80 ml 0,067 M KH_2PO_4 + 20 ml 0,067 M Na_2HPO_4)] separă bine fenilalanina. Leucina se separă de izoleucină în amestec n-butanol și benzilalcool (pH = 8,4; tampon : 50 ml 0,067 M acid boric și KCl + 8,55 ml 0,067 M NaOH). Hîrtia este prealabil îmbibată cu soluțiile tampon respective și uscate la 35°C. Ulterior se aplică pe această hîrtie proba de analizat. Se pot păstra cromatogramele mai multă vreme, fără alterarea culorilor, prin acoperirea cu un strat de parafină topită.

Determinarea cantitativă a aminoacizilor se efectuează pe hidrolizate obținute prin același procedeu ca și pentru examenul calitativ și în condițiile de cromatografie stabilite ca fiind acelea de optimă separare pentru fiecare aminoacid în parte. Se folosește hîrtia Watman nr. 1, punînd pe aceeași foaie (45/60), cu ajutorul unei pipete micrometrice, proba de examinat și harta aminoacizilor cunoscuți, în soluții apoase, în concentrare de același ordin de mărime cu a aminoacidului corespunzător din hidrolizat. Se folosește de asemenea lichidul de irigare cel mai adecvat separării grupului de aminoacizi ce urmează a fi determinați. După trecerea duratei optime necesare separării fiecărui aminoacid în parte, se usucă foile 20 de minute la 90°C, se pulverizează foarte fin cu o soluție

0,5% ninhidrină în butanol, se usucă 10—15 minute la 100°C. Se decupează fragmentele de hîrtie cuprinzînd petele colorate corespunzătoare fiecărui aminoacid din hidrolizat şi petele aminoacizilor martori. Fragmentele acestea sînt tăiate la rîndul lor în pătrate cît mai mici posibile şi introduse corespunzător fiecărei pete în eprubete separate, unde sînt îmbibate din nou cu soluţia 0,5% ninhidrină în cloroform, aceasta pentru a realiza o intensificare a reacţiei. Se lasă să se evapore cloroformul, se adaugă în fiecare eprubetă 0,2 ml dintr-o soluţie de azotat de cupru în alcool [23] (1 ml soluţie saturată azotat de cupru, 0,2 ml soluţie acid azotic 10%, 100 ml alcool 96°). Coloraţia albastră-violet caracteristică compuşilor cu ninhidrina a amino-acizilor, trece în coloraţie roz, caracteristică compuşilor de cupru nou formaţi. După uscarea fragmentelor la temperatura camerei, se extrage compusul colorat în metanol (numărul de cm^3 de metanol în care se face extracţia variază în funcţie de intensitatea culorii). Metanolul extrage total pigmentul colorat. Extractul metanolic al fiecărui aminoacid în parte este fotometrat, folosind drept martor extractele aminoacizilor martori prelucraţi în condiţii experimentale absolut identice. Aceasta este absolut necesar pentru a elimina factorii accidentali variabili cu condiţii experimentale ce nu pot fi controlate. Pulverizarea cu soluţia sării de cupru direct pe foaia de hîrtie astfel cum este scoasă de la irigare şi înainte de decuparea petelor colorate cu ninhidrină (astfel cum este indicat de unii autori [35]) prezintă inconvenientul important al solubilizării pigmentului colorat şi etalării acestuia pe o zonă largă în jurul petei aminoacidului respectiv, ceea ce duce la imbricarea acestor pete corespunzătoare diverşilor aminoacizi din amestec, deci la o alterare a unei bune separări. Se obţin rezultate bune folosind pentru punerea în evidenţă a aminoacizilor şi dozarea acestora, reactivul : 75 mg $CdCl_2$, 6 $cm^3 H_2O$, 0,3 cm^3 acid acetic, 100 cm^3 acetonă, 2 g ninhidrină [4].

Cromatografia glucidelor. Glucidele, componente ale poliozidului specific au fost determinate, calitativ şi cantitativ, prin cromatografia de partiţie pe hîrtie de filtru, după hidroliza extractului antigenic total. Hidroliza se face cu SO_4H_2 (concentrare finală 2 N), în fiole închise, menţinute 4 ore pe baie de apă la 100°C. Îndepărtarea acidului sulfuric se face cu oxid de bariu (pH final = 5,5). Precipitatul de sulfat de bariu este îndepărtat prin centrifugare sau filtrare. Examenul calitativ se face folosind ca lichid de irigare diversele amestecuri în funcţie de glucidul ce urmează a fi identificat : piridina-butanol-apă (3 :2 :1,5) care separă bine glucoza de galactoză [2]; butanol-acid acetic-apă (40 :10 : 50); butanol-etanol-apă (45 :5 :50) [35]; piridină-alcool amilic-apă (35 :35 :30). Hîrtia folosită Schleicher-Schüll 597. După durata adecvată de irigare, foile de hîrtie se usucă la 80°C şi se pulverizează cu ftalat de anilină în butanol [36]. Identificarea glucidelor din hidrolizat se face prin cromatografierea paralelă a soluţiilor de glucide cunoscute.

Determinarea cantitativă a glucidelor. După identificare, glucidele componente, se determină cantitativ, după separarea lor cromatografică. Se aplică pe hîrtia Schleicher-Schüll 597, cu ajutorul pipetei micrometrice, probe în dublu ale aceleiaşi soluţii distanţate la 10 cm şi despărţite printr-o linie trasată de-a lungul hîrtiei cu creionul. Se pun probe multiple în concentraţii variabile în funcţie de proporţia fiecărui glucid din hidrolizatul amestecului în parte, aceasta pentru o mai eficace separare. În condiţi

analoge de cromatografie se pun și probe ale soluțiilor glucidelor martor identificate anterior, ca existînd în hidrolizatul antigenului. După trecerea intervalului optim necesar unei separări eficace, a glucidelor componente, foile de hîrtie sînt uscate la 80°C. Se taie hîrtia de-a lungul liniei trasate cu creionul, pentru fiecare glucid martor și pentru hidrolizatul de analizat. Se pulverizează cu soluția de ftalat de anilină numai una din fîșiile probelor duble, fîșie care va servi la localizarea poziției glucidelor respective de pe foaia de hîrtie corespunzătoare rămasă nepulverizată. Pe această din urmă foaie se decupează porțiunile localizate fiecărui glucid în parte. Fragmentele de hîrtie astfel decupate se taie ulterior în mici pătrățele care se introduc în fiole de 10 cm^3. Peste aceste pătrățele de hîrtie se adaugă 5—10 ml apă tridistilată, fiolele se închid și se pun la etuva de 50°C, timp de 12 ore, interval suficient pentru a extrage total glucidul din hîrtie. După acest interval se filtrează lichidul de extracție și acesta va servi la dozarea glucidului respectiv cu metoda cu fericianură de potasiu [30] și comparativ și cu metoda Hagedorn-Jensen, luînd toate precauțiile necesare sensibilității acestor metode, efectuînd probe în alb pe fragmente de hîrtie de pe aceeași fîșie în regiunile unde nu au fost identificate glucide. Glucozamina a fost dozată cu metoda Elson-Morgan direct pe hidrolizat [40].

Spectrul în ultraviolet. Deoarece extractele antigenice au un conținut important de acizi nucleici, era interesant de controlat spectrul lor în ultraviolet. Detaliile de tehnică și rezultatele obținute vor fi redate într-o notă separată, astfel că nu mai insistăm aici.

DATELE EXPERIMENTALE

Randamentul. Randamentul în substanță extractibilă, prin ambele metode, variază pentru diversele tulpini folosite de noi între 10 și 16% din corpii microbieni uscați. Valorile sînt redate în tabloul nr. 1.

Tabloul nr. 1

Randamentul în substanță uscată antigenică

Valori exprimate în substanță uscată la 100 g germeni

Tulpina *S. Typhi*	Ty_2	O_{901}	Vi I	T_{58}	A	B	C	D	P. Ballerup
Metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	15,00	11,10	10,00	14,00	12,00	11,00	16,00	15,00	14,00
Metoda extracției acide la cald (40′ 90°)	15,00	14,90	11,90	16,10	15,00	18,00	18,00	17,00	15,50

Azotul total. Azotul total determinat prin distilare după microkjeldalizare, indică pentru antigenele izolate din toate tulpinile examinate, valori de același ordin de mărime, cuprinse între 10 și 12 g la 100 g complex antigenic, deci valori mult mai mari decît cele corespunzătoare antigenului extras cu acid tricloracetic [6] și în general, antigenelor extrase

cu alte metode dar de același ordin de mărime cu antigenul extras cu uree [19], sau ultrasunete [19]. Acest azot vom vedea că corespunde în aceste complexe antigenice unei componente proteice și acizilor nucleici, participante constante și nu accidentale ale acestor complexe și care se regăsesc în aceleași proporții în toate preparatele izolate din una și aceeași tulpină, în diversele experiențe. Valorile sînt indicate în tabloul nr. 2 și nu prezintă diferențe apreciabile pentru antigenele obținute prin cele două metode de extracție.

Proteinele totale. Proteinele totale sînt calculate din valoarea azotului total după scăderea azotului corespunzător acizilor nucleici, dar cu eroarea introdusă de prezența aminozaharurilor din poliozid. Proporția acestor proteine este de același ordin de mărime în ambele complexe și indică o participare importantă a acestei componente în structura simplexului antigenic izolat prin metodele de extracție descrise. Participarea unei componente proteice în structura antigenului complet, corespunzător diverșilor germeni, a fost semnalată de către diverși autori. Grabar și Corvasier [20] constată că simplexele antigenice cele mai puțin toxice sînt cele mai bogate în azot, antigenul tricloracetic fiind cel mai sărac în azot dar și cel mai toxic.

Tabloul nr. 2

N - total și proteinele extractelor antigenice

Valori exprimate în g la 100 g complex antigenic total

S. Typhi (tulpina)		Ty_2	O_{901}	Vi I	T_{58}	A	B	C	D	P. Ballerup
Metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	N-total	11,30	12,40	10,80	12,00	9,7	10,00	10,00	9,40	11,70
	Proteina	45,61	52,50	41,87	45,60	40,00	45,00	43,75	39,37	44,10
Metoda extracției acide la cald (ClH N/4, 40′ 90°)	N-total	10,30	11,60	11,30	11,20	10,50	10,50	11,40	11,60	10,00
	Proteina	50,00	53,75	53,75	51,87	56,87	59,37	63,10	66,25	46,25

Componenta poliozidică. Proporția de poliozid din simplexul antigenic, este calculată din valoarea reductoare totală a glucidelor separate după hidroliza cu acid clorhidric normal (5 ore la 100°) a antigenului total și este exprimată în grame glucoză la 100 g antigen (tabloul nr. 3).

Din datele relatate în tabloul nr. 3, care rezumă valorile medii ale glucidelor totale, se constată o diferență marcată în proporția de glucide din simplexul antigenic obținut prin extracție apoasă la cald și simplexul antigenic obținut prin extracție cu acid clorhidric la cald. Antigenul obținut prin extracție acidă la cald, are o proporție mult mai mare de poliozid decît antigenul obținut prin extracție apoasă la cald din una și aceeași tulpină. Pentru primul antigen proporția corespunzătoare diverselor tulpini, variază între 20 și 35%, iar pentru cel de-al doilea, variază între 13 și 24%. Aceste două condiții diferite de extracție izolează deci

din germenele respectiv, complexe antigenice constituite din proporții diferite de poliozid, fapt care ar putea fi eventual corelat cu diferențele de comportare biologică a acestor două antigene.

Cromatografia glucidelor folosită pentru separarea componentelor glucidice din poliozid, conform tehnicilor indicate, pune în evidență pentru extractul antigenic obținut din tulpina *S. Typhi* Ty_2 (O, H, Vi)

Tabloul nr. 3

Procentul în glucide totale al extractelor antigenice

Valori exprimate în grame la 100 g complex antigenic total

Tulpina *S. Typhi*	Ty_2	O_{901}	Vi I	T_{58}	A	B	C	D	P. Ballerup
Metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	24,80	22,00	26,00	15,30	13,00	21,60	13,30	12,00	27,00
Metoda extracției acide la cald (40′ 90°)	33,00	28,50	26,70	20,70	34,30	35,20	34,30	36,00	35,60

următoarele monozaharide: *glucozamina*, *galactoza*, *glucoza*, *manoza*, *riboza ramnoza*. În condiții speciale de hidroliză se pune în evidență și un glucid cu un R_f mai mare decît al ramnozei, pe care nu am avut posibilitatea de a-l identifica și care probabil este dezoximetilpentoza, Tyveloza a cărei prezență a fost pusă în evidență de G. Pon și M. Staub [38] în poliozidul pur izolat din B. tifici, tulpina O_{901} și de către O. Westphal și O. Luderitz [50]. În complexele antigenice izolate de noi din tulpina *S. Typhi* Ty_2 (O, H, Vi) se identifică aceleași glucide menționate de autorii mai sus citați, ca fiind componente ale poliozidului izolat din tulpina *S. Typhi* O_{901} avînd numai antigen O. În complexele antigenice izolate de noi, se mai constată prezența ribozei, glucid provenind probabil din acidul ribonucleic, componentă constantă a complexului antigenic extras prin metodele folosite și care nu există ca o componentă a poliozidului, deoarece nu este constatat în preparatul poliozidic izolat.

Din tulpina *S. Typhi* T_{58} ce diferă de *S. Typhi* Ty_2 prin caracteristica de a prezenta o cantitate preponderentă de antigen Vi și numai urme reduse de antigen O, s-a izolat un complex antigenic a cărui componentă poliozidică are o structură cu totul diferită. Analiza cromatografică a antigenului complet extras din această tulpină prin ambele metode, indică prezența numai a unui număr redus de componente, galactoza și glucoza și în plus prezența ribozei, aceasta din urmă provenind probabil tot din acidul ribonucleic, componentă și aici permanentă a complexului antigenic. Kozinski și colaboratori [24] constată în preparatele native ale unui antigen care aglutinează numai cu serurile Vi, după hidroliza acestui preparat, prezența a trei monozaharide, galactoza, glucoza și o pentoză pe care o consideră ca fiind xiloza. În preparatele noastre al treilea glucid este riboza. Aceiași autori scot în evidență faptul constatat și de noi că, spre deosebire de antigenul O, antigenul Vi nu conține manoza și ramnoza.

Complexul antigenic izolat de noi din tulpina *S. Typhi* 58 nu conţine nici glucozamina, componentă identificată în complexul antigenic izolat din tulpina S. Ty_2 (O, Vi, H). Aceste date sînt de importantă semnificaţie, deoarece diferenţiază din punct de vedere chimic poliozidul O de poliozidul Vi, respectiv simplexul antigenic O de simplexul antigenic Vi. Era interesant de controlat dacă această diferenţă aparţine numai extractului antigenic ca atare sau este o caracteristică a celulei bacteriene ca un tot. S-a efectuat din acest motiv analiza cromatografică a hidrolizatelor celulei microbiene totale. În aceste hidrolizate se regăsesc aceleaşi glucide ca şi în complexele antigenice extrase din tulpina respectivă. În tulpinile tifice conţinînd antigen O şi anume *S. Typhi* Ty_2 (O, Vi, H); *S. Typhi* O_{901}(O,H) se constată după hidroliză prezenţa unui număr mare de monozaharide şi anume, aceeaşi ca în antigenele izolate din tulpina corespunzătoare pe care le-am identificat ca fiind glucozamina, galactoza, glucoza, manoza, ramnoza şi în plus riboza, componentă a acizilor nucleici. La tulpinile *S. Typhi* 58, P. Ballerup, tulpini care au antigen Vi, dar nu antigen O tific, se constată numai galactoza şi glucoza şi în plus riboza componentă a acizilor nucleici, deci aceleaşi glucide identificate în antigenul izolat din germenele respectiv. Această simplificare a componenţei în glucide a fost relevată şi în procesul de trecere de la formele netede „O" la formele rugoase „R". Prin această trecere formaţiunea glucidelor cu R_f mai mare (ramnoza) şi mai liofile (ramnoza, glucozamina) este inhibată [52].

În tabloul nr. 4 se rezumă rezultatele analizei cromatografice ale hidrolizatelor germenilor totali aparţinînd diverselor tulpini examinate.

Tabloul nr. 4

Glucidele identificate cromatografic în hidrolizatele germenilor totali

Tulpina *S. Typhi* antigen predominant	Ty_2 (O)	O_{901} (O)	Vi I (Vi)	T_{58} (Vi)	A (O)	B (O)	C (O)	D (O)	P. Ballerup (Vi)
Glucozamina	+	+	−	−	+	+	+	+	−
Galactoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manoza	+	+	−	−	+	+	+	+	−
Ramnoza	+	+	−	−	+	+	+	+	−
Riboza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Procente glucide reductoare după hidroliză	12,0	12,2	10,0	9,47	10	14	15	13	9,0

Diferenţele în componentele glucidice ale germenilor conţinînd antigen „Vi" sau antigen „O" regăsite şi în componenţa antigenelor izolate din germenii respectivi, evidenţiază o structură chimică deosebită pentru aceste două tipuri de antigen. E. M. Webster şi colaboratori [49] găsesc unele diferenţe fizico-chimice între antigenele extrase dintr-o tulpină P. Ballerup şi o tulpină *S. Typhi* şi în special diferenţe mai semnificative ale viscozităţii.

Determinarea cantitativă a componentelor glucidice. Componentele glucidice participante în structura poliozidului din complexul antigenic,

au fost determinate după separarea cromatografică a hidrolizatelor respective conform tehnicilor descrise. Valorile obținute sînt redate în tabloul nr. 5 și reprezintă valorile procentuale ale glucidului respectiv raportate la componenta poliozidică.

Tabloul nr. 5

Glucidele complexului antigenic izolat din tulpinile *S. Typhi* Ty_2 și *S. Typhi* T_{58}

Valori procentuale raportate la componenta poliozidică

Tulpina	Glucidul	Glucozamina	Galactoza	Glucoza	Manoza	Ramnoza
S. Typhi Ty_2	metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	1,9	19,5	21,0	22,0	25,0
	metoda extracției acide la cald (40′ 90°)	2,1	20,0	20,0	21,0	26,0
S. Typhi T_{58}	metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	0	28,0	18,0	0	0
	metoda extracției acide la cald (40′ 90°)	0	29,0	17,0	0	0

Componenta proteică. Studiul aminoacizilor. Identificarea și dozarea aminoacizilor din complexele antigenice obținute prin cele două metode de extracție din tulpinile *S. Typhi* Ty_2 (O, Vi, H) și *S. Typhi* T_{58} (Vi, H, urme O) a fost efectuată cu ajutorul tehnicii cromatografice descrise. Datele sînt expuse în mod rezumativ în tabloul nr. 6.

Se constată diferențe de ordin cantitativ în componența aminoacizilor în funcție de tulpina examinată și pentru aceeași tulpină de metoda de extracție a simplexului antigenic. Este de observat că simplexul antigenic izolat prin metoda extracției acide la cald, are un conținut mai bogat în anumiți aminoacizi, (leucina, valina, metionina, tirosină, prolină, acid glutamic, glicocol, valină, arginină), decît complexul antigenic obținut prin metoda extracției apoase la cald. Aceasta este valabil pentru ambele tulpini și indică o diferență în structura acestor două complexe antigenice, diferențe care ar putea fi corelate cu diferențele calităților biologice constatate la antigenele izolate din aceeași tulpină prin aceste două metode de extracție diferite. Deosebirile în componența aminoacizilor este mai puțin marcată între antigenele extrase cu aceeași metodă, dar din tulpini diferite; tulpinile *S. Typhi* Ty_2 (O, Vi, H) și *S. Typhi* T_{58}, am văzut că prezintă însă deosebiri marcate în ceea ce privește componența glucidelor din poliozidul respectiv, componentă care se știe că este suportul caracterului de specificitate.

Acizii nucleici. Complexele antigenice izolate prin cele două metode din diversele tulpini de B. tifici, au un conținut bogat în acizi nucleici. În tabloul nr. 7 se redau valorile procentuale ale acizilor nucleici totali,

precum şi ale acidului ribonucleic şi dezoxiribonucleic din aceste complexe. Se constată o netă diferenţă de ordin cantitativ în funcţie de metoda de izolare a complexului antigenic şi pentru aceeaşi metodă în funcţie de tulpina folosită. Complexul antigenic obţinut prin extracţie apoasă la cald are un conţinut mult mai mare în acid dezoxiribonucleic decît complexul antigenic obţinut prin extracţie acidă la cald. Proporţia de acid ribonucleic este însă de acelaşi ordin de mărime pentru ambele complexe

Tabloul nr. 6

Aminoacizii complexelor antigenice izolate din tulpinile *S. Typhi* Ty_2 şi *S. Typhi* T_{58}

Valori exprimate în procente ale complexului antigenic total

Aminoacizi	Tulpina			
	S. Typhi Ty_2		*S. Typhi* T_{58}	
	Metoda extracţiei apoase la cald (60′ 80°)	Metoda extracţiei acide la cald (40′ 90°)	Metoda extracţiei apoase la cald (60′ 80°)	Metoda extracţiei acide la cald (40′ 90°)
Fenilalanina	1,05	0,91	1,90	1,48
Leucina	4,06	3,80	4,45	5,95
Valina	3,26	3,03	2,66	3,12
Metionina	1,85	1,80	1,17	2,62
Tirosina	0,38	0,89	nedozabil	nedozabil
Prolina	0,23	0,63	„	„
Alanina	1,30	1,59	2,90	2,01
Ac. glutamic	2,03	3,10	1,83	1,51
Treonina	1,2	1,7	2,0	2,2
Glicocol	1,17	1,54	2,07	2,07
Serina	1,07	0,39	0,72	1,49
Ac. aspartic	2,28	1,95	2,52	4,41
Arginina	1,60	1,71	2,79	4,12
Histidina	2,92	1,31	2,20	1,97
Lisina	1,84	1,58	4,23	4,38
Cisteina	0,34	0,62	nedozabil	nedozabil

antigenice (de exemplu antigenul obţinut prin extracţia apoasă la cald, izolat din tulpina *S. Typhi* Ty_2 are 21,02% acid dezoxiribonucleic şi 20,95% acid ribonucleic ; antigenul izolat din aceeaşi tulpină prin extracţie acidă la cald, are 5,07% acid dezoxiribonucleic, deci de 4 ori mai puţin decît complexul antigenic obţinut prin extracţie apoasă la cald şi un conţinut de 20,99% acid ribonucleic, deci de aceeaşi valoare ca în complexul antigenic obţinut prin extracţie apoasă la cald. Din datele tabloului se constată că pentru alte tulpini de B. tifici, diferenţele în conţinutul acidului dezoxiribonucleic sînt şi mai marcate. Comparînd conţinutul în acizi nucleici ale complexelor antigenice izolate cu aceeaşi metodă, dar din tulpinile diferite Ty_2(O, Vi, H) şi T_{58} (Vi, H, urme O) se constată la această din urmă tulpină, în care predomină antigenul Vi, un conţinut mai mare în acizi nucleici decît în tulpina Ty_2 în care predomină antigenul O. Diferenţele se menţin şi pentru această tulpină în funcţie de metoda de extracţie.

Complexul antigenic obţinut prin extracţie apoasă la cald din tulpina *S. Typhi* T_{58}, are 27% acid dezoxiribonucleic şi 26,2% acid ribonucleic. Complexul antigenic izolat din aceeaşi tulpină prin metoda extrac-

ției acide la cald, are 3,8% acid dezoxiribonucleic și 26,2% acid ribonucleic. Se pune întrebarea dacă extracția apoasă la cald nu realizează o permeabilizare mai mare a celulei microbiene pentru acidul dezoxiribonucleic

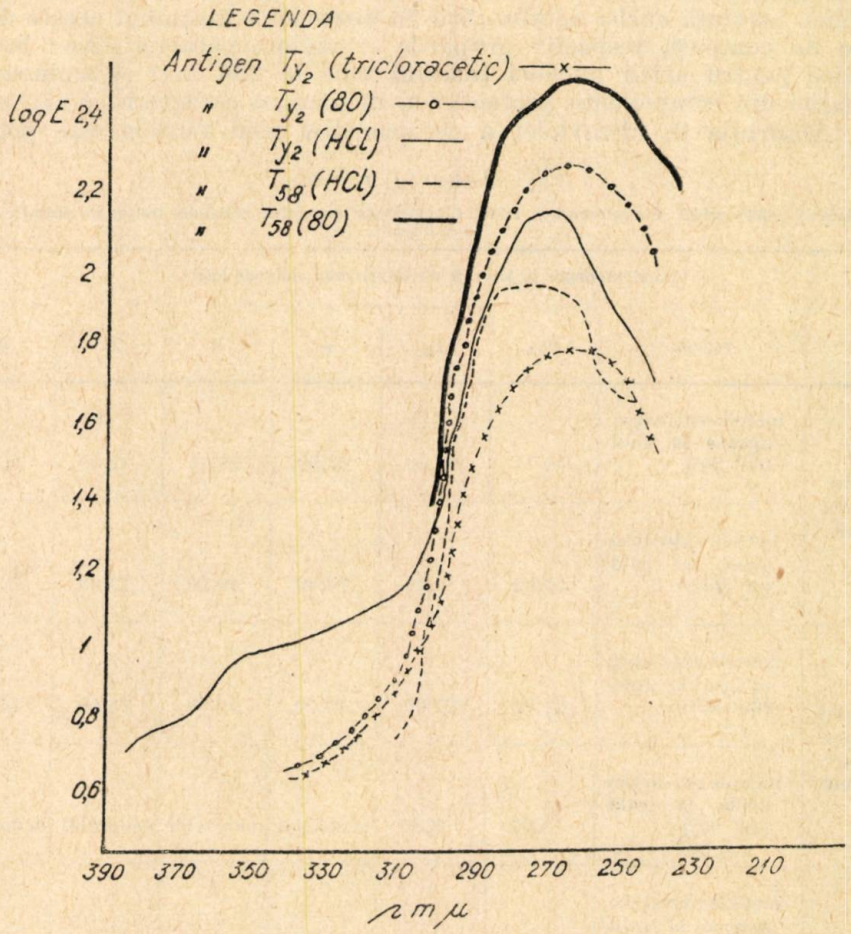


Fig. 1. — Ty_2 reprezintă tulpina *S. Typhi* Ty_2; T_{58} reprezintă tulpina *S. Typhi* 58; Ty_2 (triclor acetic) reprezintă extractul antigenic obținut după tratare cu acid tricloracetic; Ty_2 (80) reprezintă extractul obținut prin metoda extracției apoase la 80° (50′); Ty_2 (HCl) reprezintă extractul obținut prin metoda extracției (HCl N/4 la 90° (120′); T_{58} (80) reprezintă extractul obținut prin metoda extracției apoase la 80° (60′).

[10], permeabilizare care ar explica proporția mare a acestei componente în complexul antigenic izolat cu această metodă.

Analiza spectrală în ultraviolet. Analiza spectrelor de absorbție în ultraviolet a aceloraşi complexe antigenice va fi prezentată într-o notă separată. Această analiză confirmă datele chimice şi evidențiază prin caracteristicile spectrului de absorbție în ultraviolet, diferențele cantitative ale conținutului în acizi nucleici totali a celor două complexe anti-

genice izolate din aceeaşi tulpină cu metode de extracţie diferite şi a diferenţelor constatate în extractele antigenice obţinute cu aceeaşi metodă de extracţie din tulpini diferite (figura).

Complexele antigenice avînd în componenţa lor acizi nucleici şi proteine, prezintă curba de absorbţie în ultraviolet însumînd aceste două grupe de compuşi, respectiv grupările cromofore caracteristice : bazele purinice pentru acizii nucleici (maxim unic la 260 mμ) şi aminoacizii aromatici din componenta proteică (cu un maxim caracteristic 270—280 mμ). Absorbţia în ultraviolet a componentei acid nucleic este pentru

Tabloul nr. 7

Acizi nucleici totali : acidul dezoxiribonucleic, acidul ribonucleic din complexele antigenice izolate din diversele tulpini de *S. Typhi*

Valori exprimate în procente ale complexului antigenic total

	Tulpina	Ty_2	T_{58}	A	B	C	D
Acizii nucleici totali	metoda extracţiei apoase la cald (60′ 80°)	41,74	48,40	33,90	29,00	31,00	31,90
	metoda extracţiei acide la cald (40′ 90°)	27,02	30,00	14,40	10,30	14,00	10,30
Acidul dezoxi-ribo-nucleic	metoda extracţiei apoase la cald (60′ 80°)	21,02	27,00	19,00	20,00	18,60	18,00
	metoda extracţiei acide la cald (40′ 90°)	5,07	3,80	nedozabil	nedozabil	nedozabil	nedozabil
Acidul ribo-nucleic	metoda extracţiei apoase la cald (60′ 80°)	20,95	21,4	14,90	9,00	12,40	13,90
	metoda extracţiei acide la cald (40′ 90°)	20,99	26,20	14,40	10,30	14,00	10,30

concentraţii identice mult mai intensă decît a proteinelor, astfel că din curbele de absorbţie se pot scoate relaţii cantitative ale acestor componente. Rezultatele obţinute prin analiza spectrală confirmă datele chimice. Participarea acizilor nucleici în structura complexelor antigenice este evidentă şi semnificaţia acestor componente a fost relevată şi discutată în unele lucrări apărute în ultimii ani [15] [25]. J. M. Habas, S. B. Elkin şi M. M. Şternberg [21] corelează capacitatea imunogenă mai mare a unor preparate cu existenţa acizilor nucleici în aceste preparate.

Fosforul. Conținutul în fosfor total determinat după mineralizare este în proporție diferită în antigenele obținute prin extracția apoasă la cald și antigenele obținute prin extracție acidă la cald, dacă se raportează valorile procentuale la complexul antigenic total. Se obțin valori apropiate pentru aceste două complexe antigenice, dacă se raportează aceste valori la proporția de acizi nucleici din fiecare complex antigenic; în medie 9,7%, ceea ce ar indica că valoarea fosforului revine acizilor nucleici din complexele antigenice (tabloul nr. 8).

Lipidele. Conținutul în lipide totale, determinate prin extracția eterică a hidrolizatelor acide ale complexului antigenic total, este foarte mic în comparație cu proporția de lipide a antigenului extras cu acid tricloracetic (antigenul glucido-lipidic) din aceeași tulpină. Dacă se raportează la componenta poliozidică (exprimată în substanță reductoare), admițînd că lipidele sînt legate de poliozid ca în antigenul glucidolipidic, apar valori mai mari, dar neatingînd totuși proporția din acest antigen.

Tabloul nr. 8

Fosforul total exprimat în procente ale complexului antigenic

Tulpina *S. Typhi*	Ty_2	T_{58}	O_{901}	A	B	C	D	P. Ballerup
Metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	4,05	4,70	4,00	3,30	2,82	3,02	3,10	4,03
Metoda extracției acide la cald (40′ 90°)	2,63	2,93	2,70	1,40	1,00	1,30	1,00	2,60

Este posibil ca timpul de hidroliză folosit de noi (8 ore), să fie mult prea scurt pentru separarea totală a lipidelor din complex. În adevăr, lucrări anterioare [43] au arătat că antigenul glucido-lipidic, extras din tulpinile Vi, are o rezistență marcată la eliberarea componentei lipidice și aceasta ar constitui o caracteristică chimică a antigenului Vi (tabloul nr. 9).

Tabloul nr. 9

Lipidele complexelor antigenice izolate din cîteva tulpini de *S. Typhi*

Valori exprimate în procente ale complexului antigenic total		
Tulpina	Ty_2	T_{58}
Metoda extracției apoase la cald (60′ 80°)	1,90	4,90
Metoda extracției acide la cald (40′ 90°)	1,35	—

CONCLUZII

1. Se izolează dintr-o serie de tulpini de *S. Typhi*, prin două metode de extracție diferită, complexe cu caracter de antigen complet. Se expun datele chimice care caracterizează aceste extracte antigenice.

2. Metodele de izolare folosesc : *a*) extracția apoasă la 80°C, timp de 60 minute; *b*) extracția acidă la cald (acid ClH N/4, 40 minute la 90°C). Extracția este urmată de centrifugare la 10 000 rot/min și dializa supernatantelor de centrifugare.

3. Valoarea procentuală a complexului antigenic izolat corespunde la 12—16 din greutatea uscată a germenului respectiv.

4. Extractele antigenice izolate prin ambele metode sînt complexe macromoleculare : poliozido-proteină-acizi nucleici conținînd în proporție mai mică și lipide.

5. Complexele antigenice izolate prin cele două metode de extracție se deosebesc între ele prin raporturile cantitative ale componentelor din complexul macromolecular.

6. *Componenta poliozidică* (exprimată în substanță reductoare după hidroliza acidă a complexului antigenic) este în proporție mai mare în complexul antigenic obținut prin extracție acidă la cald decît în complexul antigenic obținut prin extracția apoasă la cald.

7. Cromatografia componentelor glucidice, calitativă și cantitativă, indică prezența în complexele antigenice izolate din tulpinile *S. Typhi*, cu structură antigenică completă (O, Vi, H) prezența glucozaminei, galactozei, glucozei, manozei, ramnozei, un glucid cu un R_f mai mare decît al ramnozei, precum și riboza, aceasta din urmă provenind din acidul ribonucleic din complex. În complexul antigenic izolat din tulpini care nu conțin practic antigen O (tulpini Vi, H) se identifică numai galactoza și glucoza, precum și riboza, componentă a acidului ribonucleic din aceste complexe.

8. Componența diferită glucidică a complexelor antigenice izolate din cele două tipuri de tulpini *S. Typhi*, nu este funcție de metodele de izolare a complexului antigenic, ci de structura însăși a celulei microbiene. Cromatografia glucidelor efectuată pe hidrolizatul germenului total, indică aceeași componență în glucide ca și a complexului antigenic respectiv. Aceasta poate deci constitui un criteriu chimic de diferențiere a celor două tipuri microbiene.

9. *Componenta proteică* este în proporție de aproximativ același ordin de mărime în structura complexelor antigenice izolate.

a) Analiza cromatografică calitativă indică prezența aceloraşi aminoacizi în ambele complexe antigenice.

b) Analiza cromatografică cantitativă indică o concentrare mai mare a anumitor aminoacizi : leucina, valina, metionina, tirosina, prolina, acid glutamic, glicocolul, valina, arginina, în complexul antigenic obținut prin extracție acidă decît în complexul antigenic obținut prin extracție apoasă. Aceasta este valabil pentru diversele tulpini și este funcție numai de metoda de extracție a complexelor antigenice.

10. *Acizii nucleici* au fost analizați prin spectrul de absorbție în ultraviolet și determinarea cantitativă directă a acidului dezoxiribonucleic și acidului ribonucleic. Complexele antigenice izolate prin metoda extracției apoase la cald au un conținut mult mai mare în acid dezoxiribonucleic decît antigenul izolat prin metoda extracției acide la cald. Valoarea acidului dezoxiribonucleic este minimă în acest din urmă antigen.

Acidul ribonucleic este în proporție aproximativ egală în ambele complexe antigenice.

11. *Componenta lipidică* este în mică proporție în ambele complexe antigenice.

12. *Fosforul* raportat la valoarea acizilor nucleici totali din complexele antigenice corespunzătoare revine în totalitate acestor componente.

Diferențele chimice semnalate în structura complexelor antigenice izolate prin metodele diferite de extracție, ar putea eventual justifica diferențele biologice constatate în comportarea acestor complexe. Proprietățile biologice indică în adevăr, că metoda extracției apoasela cald izolează din corpul microbian totalitatea tipurilor de antigene din germenele respectiv (O, Vi, H), pe cînd metoda extracției acide la cald izolează din aceleași tulpini numai antigenul Vi biologic activ, realizînd o degradare selectivă cu pierderea proprietăților biologice a celorlalte antigene (O și H) existente în germenele respectiv.

К ВОПРОСУ О БРЮШНОТИФОЗНЫХ ТРИВАКЦИНАХ ИЗ МИКРОБНЫХ ЭКСТРАКТОВ

II. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СОМАТИЧЕСКИХ АНТИГЕНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *S. TYPHI*

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Приводятся результаты анализа двух различных типов антигена, полученных из разных штаммов *S. Typhi* двумя методами; первый метод заключается в извлечении дистиллированной водой при 80° в течение 60 минут, а второй — в извлечении хлористоводородной кислотой N/4 при 90° в течение 40 минут из микробов, обработанных ацетоном. Анализы сделаны на диализатах микробов, всплывших в результате центрифугирования микробных взвесей при 10 000 об/мин.

При обоих методах получаются комплексы, состоящие из полиозид-протеин-нуклеиновой кислоты, содержащие небольшие количества липоидов; количества выделенных антигенов соответствуют 12—16% сухого веса микробов. Антигеновые комплексы, выделенные обоими методами, отличаются друг от друга количественными соотношениями компонентов, входящих в эти комплексы; полиозидовый компонент находится в большем количестве в антигеновом комплексе, извлеченном хлористоводородной кислотой.

Хроматография углеводных компонентов, выделенных из штаммов S. Typhi, имеющих полную антигенную структуру (O, Vi, H), указывает на присутствие глюкозалина, галактозы, манозы, рамнозы, углевода с Rf большим, чем у рамнозы, по всей вероятности, тивелозы, а также рибозы— компонента нуклеиновой кислоты, входящей в комплексы. В антигеновых комплексах, выделенных из штаммов, не содержащих антигена O (штаммы Vi H), можно распознать лишь галактозу и глюкозу, а также и рибозу нуклеиновых кислот.

Хроматография углеводов из полных гидролизатов микробов показывает тот же состав, что и у извлеченного антигенового комплекса.

Протеиновый компонент входит приблизительно в той же пропорции в оба типа антигена; хроматографический анализ этого компонента указывает на присутствие одних и тех же аминокислот в обоих антигеновых комплексах, с количественными разницами в зависимости от метода экстрагирования. Нуклеиновые кислоты, присутствующие в обоих комплексах,

анализированы при помощи спектра поглощения в ультрафиолетовых лучах и непосредственного определения. Оба антигена имеют приблизительно одинаковые пропорции рибо-рибонуклеиновой кислоты, тогда как дезоксирибонуклеиновая кислота находится в значительно большем количестве в экстракте, полученном при помощи дистиллированной воды при 80°. Липоиды находятся в весьма малых количествах в обоих антигенах. Фосфор содержится исключительно в нуклеиновых кислотах рассматриваемых комплексов.

Химические различия, отмеченные в строении комплексов, выделенных обоими методами, могли бы, возможно, объяснить биологические различия, констатированные в их поведении. В самом деле, при помощи метода экстрагирования дистиллированной водой при 80° выделяются из микробного тела все антигены данного микроба (O, Vi H), в то время как хлористоводородной кислотой N/4 при 90° извлекается лишь антиген Vi, биологически активный, при избирательной деградации биологических свойств прочих антигенов (O и H).

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DES VACCINS ANTITYPHO-PARATYPHIQUES

II. ÉTUDE CHIMIQUE COMPARATIVE DES ANTIGÈNES SOMATIQUES EXTRAITS DE *S. TYPHI*

(RÉSUMÉ)

Cet exposé résume les résultats de l'analyse chimique des antigènes obtenus par deux méthodes différentes à partir de quelques souches de *S. Typhi* contenant l'antigène O, O + Vi, O + Vi + H (Ty_2,T_{58} O_{901}, Vi).

Ces méthodes sont :

1. La méthode d'extraction aqueuse à chaud (60′ à 80°) à partir de corps microbiens préalablement traités à l'acétone.

2. La méthode d'extraction acide à chaud (ClH N/4 60′ à 90°).

Par les deux méthodes, on extrait de ces souches un composant antigénique à caractère chimique complexe, constitué par un simplex polyoside-protéine-acide nucléique contenant des lipides en proportion réduite. Les propriétés biologiques des extraits obtenus au moyen de ces deux méthodes sont différentes et sont relatées dans des Notes séparées.

L'analyse chimique de ces antigènes, aux caractères biologiques différents, indique les faits suivants :

1. Le composant polyosidique analysé par chromatographie de partage sur papier filtre, après hydrolyse acide, contient en tant que souches à antigène O, les glucides suivants : glucosamine, 1,9—2,1 % ; galactose, 19,5—20,0 % ; glucose, 21,0—20,0 % ; mannose, 22,0—21,0 % ; rhamnose, 25,0 — 26,0 %.

Pour les souches à prédominance d'antigène Vi, le composant polyosidique contient uniquement du galactose, 28,0 — 29,0 % et du glucose, 17,0—18,0 %.

Cette diférence chimique dans la constitution des antigènes O et Vi préexiste dans la cellule microbienne intacte et constitue, de ce fait, un caractère chimique différentiel entre ces deux types microbiens.

Les deux antigènes présentent également le ribose en tant que composant glucidique, celui-ci ayant pour origine les acides nucléiques qui se trouvent dans ces complexes.

2. Le composant protéique du complexe antigénique analysé par chromatographie de partage, qualitative et quantitative, sur papier filtre, indique une analogie de constitution pour les souches à antigènes O et Vi et, en fonction de la méthode d'extraction, une certaine différence entre les valeurs procentuelles des différents amino-acides.

3. Les acides nucléiques ont été mis en évidence par les spectres d'absorption en U.V. et par dosage direct de l'acide ribonucléique et désoxyribonucléique.

Ils constituent un composant caractéristique des antigènes obtenus par ces deux méthodes.

L'antigène, obtenu par extraction aqueuse à chaud, contient une proportion moyenne de 24% d'acide désoxyribonucléique et de 21% d'acide ribonucléique.

L'antigène, obtenu par extraction acide à chaud, contient une proportion moyenne de 4,5% d'acide désoxyribonucléique et de 23% d'acide ribonucléique ; dans ce dernier antigène il y a donc prédominance d'acide ribonucléique.

BIBLIOGRAFIE

1. ACHER R., FROMAGEOT CL., IUTISZ M., Biochim. Biophys. Acta, **5**, 81 (1950).
2. ASHIDA, Japan. Journ. exp. Med., **20**, 181 (1949).
3. BARRON GUZMAN E. S., Arch. of Biochem., **35**, 443 (1952).
4. BARROLIER J., Naturwissenschaft, **42**, 416 (1955).
5. BODE F., HÜBNER H. J., BRÜCKNER H., Naturwissenschaft, **23**, 524 (1952).
6. BOIVIN A., MESROBEANU L., Rev. d'Immunol., **1**, 553 (1935).
7. BOIVIN A., DELAUNAY A., Bull. Acad. Méd., **128**, 357 (1944).
8. BOIVIN A., Schweizerische Zeit. f. Path. Bakt., **9**, 5, 505 (1946).
9. BRIGGS, J. Biol. Chem., **53**, 13 (1922).
10. CARLIFANO L., Bull. Org. Mond. de la Santé, **6**, 19 (1952).
11. CHAMBERE L. A., FLOSDORF, Proceed. Soc. exp. Biol. and Med., **34**, 631 (1936).
12. CHARGAFF E., LEVINE C., GREEN CH., Journ. Biol. Chem., **175**, 76 (1948).
13. COMBIESCU D., SORU E., STAMATESCU S., Arch. Roum. Pathol. exp. et de Microbiologie, **3**, 189 (1930).
14. DISCHE, Microchemie, **8**, 4, (1930).
15. DOBROVSKAIA I., SIPITINA G., Biochimia, **16**, 328 (1951).
16. FARREN Mc. E. F., MILLS J. A., Annals Chem., **24**, 650 (1952).
17. FISCHER F. G., DÖRFEL H., Biochem. Zeit., **324**, 544 (1953).
18. FREEMAN G. G. and collab., Biochem, Tourn., **34**, 307, 1940 ; **35**, 364 (1941) ; **36**, 340 şi 355 (1942) ; **37**, 601 (1943).
19. GOEBEL W. F., BRINKLEY F., PERLMAN E., Journ. exp. Med., **81**, 315 (1945) ; **89**, 325 (1949).
20. GRABAR P., CORVASIER P., Anr. Inst. Pasteur, **80**, 255 (1951).
21. HABAS J. M., ELKIN S. B., STERNBERG M. M., Biohimia, XIX, **2**, 167—173 (1954)
22. HAGEDON-JENSEN, Biochem. Z., **135**, 46 (1923).
23. KAWERAN E., WIELAND TH., Nature, **77**, 168 (1951).
24. KOZINSKI A. W., MANEREWICZ M., MIKULASZEK E., OPARA Z., Bull. de l'Acad. Polonaise des Sciences, **11**, 1 (1954).
25. KUVAJIMA Y., MASIA M., NAKAMURA M., Yokohama Med. Bull., **3**, 190 (1952) ; **4**, 259 (1953).
26. LANDY M., Proceed. Soc. exp. Biol. and Med., **80**, 55—58 (1952).
27. Mc. PHERSON H. T., Biochem. Journ., **40**, 470—481 (1946).

28. MAIMGREN BERNDT, CARL GORAN HEDEN, Acta Pathol. et Microbiol. Scand., **24**, 416—436, 448—471, 472—495, 496—453 (1947).
29. Mc. FARREN E. F., MILLS J. A., Annal. Chemie, **24**, 650 (1952).
30. MONTREUIL J., Bull. Soc. Chimie Biologique, **31**, 1639 (1949).
31. MORGAN W. T. J., Lancet, **1**, 252 (1937).
32. — Biochem. Journ., **31**, 2003 (1937).
33. MORGAN W. T. J., PARTRIDGE S. M., Brit. Journ., exp. Pathol., **23**, 151 (1942).
34. PALMER J. W., CERLOUGH T. D., Science, **92**, 155 (1940).
35. PARTRIDGE S. M., Biochem. Journ., **42**, 238 (1948).
36. — Nature, **164**, 443 (1949).
37. PETROSIAN E., AMFRIEVA E., MERIMSON K., Trudî Mosc. in-ta Mecinikova, **4**, 230 (1950).
38. PON G., STAUB M., Bull. Soc. Chimie Biol., **34**, 1132 (1952).
39. RAISTRICK H., TOPLEY W. W. C., Brit. Journ. exp. Pathol., **15**, 11, 15 (1934); Lancet, 252 (1937).
40. RIMINGTON, Biochem. Journ., **27**, 1824 (1933).
41. ROBERTS R. S., Journ. Comp. Pathol. and Therap., **59**, 284—304 (1952).
42. SCHIDT G., TANNHAUSER J., Journ. Biol. Chemistry, **161**, 83 (1945).
43. SORU E., COMBIESCU C., C. R. Soc. Biol., **129**, 1005, 1006, 1236 (1938).
44. — C. R. Soc. Biol., **129**, 103, 106, 415, 1236 (1938); **132**, 172 (1939).
45. SPAUN J., Acta Pathol. et Microbiol. Scand., **34**, 609—624 (1954).
46. TOMA S., SORU E., BARBER C. şi colab., Lucrările Sesiunii Ştiinţifice a Inst. „Dr.I. Cantacuzino", decembrie 1955.
47. WALKER J., Biochem. Journ., **34**, 325 (1940).
48. WEBSTER E. M., LANDY M. J., FREEMAN M. E., Journ. Immunol., **69**, 135—142 (1952).
49. WEBSTER E. M., SAGIN J. F., ANDERSON P. R., BREESE S. S., FREEMAN M. E., LANDY M., Journ. Immunol., **73**, 16—22, 23—28, 52—62 (1954).
50. WESTPHAL O., LUDERITZ O., Angew. Chemie, **65**, 555 (1952).
51. WESTPHAL O., LUDERITZ O., BISTER F., Zt. Naturforschung, **7b**, 148 (1952).
52. WESTPHAL O., LUDERITZ O., *VI Internation. Congress Microbiol.* Roma, 1953.
53. — Angew. Chemie, **13/14**, 407 (1954).
54. SORU E., BARBER C., TOMA S., GRIŢAENCO V., BOGOCOWSKI B. (sub tipar).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

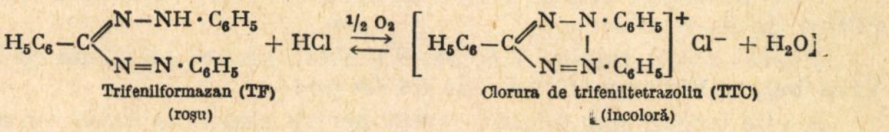
STUDIUL METABOLISMULUI OXIDATIV CU AJUTORUL CLORURII DE TRIFENILTETRAZOLIU LA GERMENII ANAEROBI*)

DE
EUGENIA SORU
MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.
şi
M. ŞTERNBERG

Deoarece experienţe efectuate cu sisteme enzimatice izolate [1] au arătat că în reducerea biologică a clorurii de trifeniltetrazoliu această componentă ar funcţiona în competiţie cu sistemul citocromic ca acceptor specific al electronului flavinenzimelor reduse, era interesant de urmărit dacă la germenii anaerobi, la care nu a fost pus în evidenţă un sistem citocromic, are loc totuşi o reducere a sărurilor de trifeniltetrazoliu. Lucrarea de faţă expune rezultatele acestor cercetări.

În 1941, Kun şi Jerchel [5] introduc primii clorura de trifeniltetrazoliu (TTC), ca un indicator de reducere în sistemele biologice.

Funcţionînd printr-un transfer de electroni, sărurile de tetrazoliu incolore şi acvo-solubile sînt transformate prin reducere, în formazane insolubile şi colorate



În sistemele biologice, reducerea TTC se face de către enzimele respiratorii.

Mattson, Jensen şi Dutcher [7] cred că în sistemele enzimatice implicate în reducerea TTC din sistemele biologice intervin dehidrogenazele, coenzima I şi coenzima II, dependente.

Bielig, Kausche şi Haartrich [1], lucrînd cu *Escherichia coli* şi urmărind reducerea TTC în funcţie de pH şi temperatură, deduc că, condiţiile de maximă producere de formazan (pH aproximativ 8,5 şi temperaturi pînă la 70°) ar da indicaţi de intervenţie a unui sistem flavinproteinic de tipul diaforazei.

---

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 27 februarie 1956.

Lucrînd cu sisteme enzimatice izolate (o oxidază din *Escherichia coli*) Brodie şi Gots [2] demonstrează că oxidarea coenzimei I (difosfopiridinnucleotidului) redusă este concomitentă cu reducerea TTC la TF în sistemele în care există flavinenzime. Valorile potenţialului de oxidoreducere al flavinenzimei reduse (—60 mV) şi al TTC (—80 mV) indică posibilă reducerea TTC de către flavinenzima sub forma sa redusă. TTC apare nu ca un indicator general de oxidoreducere, ci ca un acceptor specific pentru flavinenzima redusă, ca un indicator specific al acestei enzime.

E. Kun [6] arată că în ţesuturile animale TTC poate fi redus de dehidrogenaze cu caracter de flavinenzime (aminoacid-dehidrogenază) iar după Schelton şi Schneider [8] de xantinoxidază.

TTC ar interveni în competiţie cu sistemul citocromic în lanţul de oxidaţie [4]. Între TTC şi sistemul citocromic ar exista competiţie pentru electronii sistemului redus, astfel că reducerea TTC apare ca un indicator a flavoproteinoxidazei.

Se ştie că germenii anaerobi nu posedă un sistem citocromic, astfel că apărea special de interesant de urmărit dacă totuşi la aceşti germeni se poate pune în evidenţă o flavoproteinoxidaţie care să corespundă însă în celula anaerobă unui alt acceptor de electroni decît citocromul, TTC urmînd în acest caz, a fi indicatorul acestui tip de oxidaţie. Lucrarea de faţă expune rezultatele cercetărilor noastre efectuate în această direcţie la cîţiva germeni anaerobi.

MATERIAL ŞI METODE

Germenii folosiţi

S-a experimentat pe următoarele tulpini: *Cl perfringens*, tulpina A.S. 107. N.C.T. 6125 cultivată pe bulion Pope, culturi de 14 ore.

Cl. tetani (D_{21}) cultivat pe mediul cu peptonă Witte. Culturi de 7 zile.

Cl. oedematiens, tulpina Fanoir pe mediu bulion Vf şi bulion Walbum, culturi de 4—5 zile.

Vibrion septic, tulpina V.S. 54. N.C.T.C., cultivat pe mediu cu bulion Vf şi bulion Walbum. Culturi de 36 de ore.

Aceste tulpini sînt folosite curent pentru obţinerea toxinelor respective în Secţia de anaerobi din Institutul „Dr. I. Cantacuzino" *).

Pregătirea emulsiilor

Germenii obţinuţi din culturile pe mediile descrise mai sus, sînt emulsionaţi în apă fiziologică, centrifugaţi şi spălaţi de două ori cu apă bidistilată. Reluaţi în apă bidistilată, constituie emulsia de germeni în stare de neproliferare „resting bacteria" cu care se vor efectua experienţele. Pe această emulsie se determină în prealabil densitatea microbiană prin

*) Ţinem să mulţumim pe această cale, Secţiei de anaerobi din Institut pentru procurarea culturilor necesare.

uscare la 100° și exsicator a unui număr dat de cm^3, rezultatele fiind raportate la densitatea microbiană. Se lucrează, în general, cu emulsii avînd 7—10 mg/ml (exprimați în germeni uscați).

Substratele folosite

Se lucrează cu o varietate largă de substrate aparținînd grupei glucidelor, aminoacizilor, cetoacizilor, tetraacizi dicarboxilici, amine. Printre glucide se folosește glucoza, galactoza, manoza, xiloza, arabinoza, riboza, ramnoza, fucoza, lactoza, zaharoza, maltoza. Alte substrate sînt manita, glucozamina, acidul glicuronic, malatul, lactat, malonat, fumarat, succinat, piruvat, alfa-ceto-glutarat, acid ribonucleic. Se folosesc aminoacizi și anume glicocol, alanină, serină, prolină, treonină, metionină, cisteină, cistină, arginină, ornitină, citrulină, lizină, histidină, valina, triptofanul, tirosina, fenilalanina, acid aspartic, acid glutamic, glutamina. Se fac soluții M/10 în apă bidistilată (pH = 7).

Condițiile experimentale

Se lucrează comparativ în condiții aerobe și anaerobe, sistemele în condiții aerobe se pun în sticluțe cu dop (sticluțe de penicilină). Sistemele urmărite în condiții anaerobe se pun în tuburi Thunberg în care se face vidul pînă la o presiune de 2 mm. Se lucrează în mediu de tampon fosfat, pH = 7,3 (M/15).

Soluția de TTC se face în proporție de 0,1% în apă distilată, scurt timp înainte de adăugarea sa în sistem. TTC a fost preparat după tehnica indicată în lucrarea K u n și J e r c h e l [5]. Fiecare sistem este constituit din următoarele componente:

1 cm^3 emulsie microbiană (7—10 mg/ml),
1 cm^3 tampon fosfat pH = 7,3 (M/15),
1 cm^3 soluție substrat,
1 cm^3 soluție TTC (0,1%).

Se fac sisteme martor cu 1) emulsie inactivată prin încălzire 60 minute la 100° (baie de apă), 2) sisteme conținînd substratul, dar fără emulsia microbiană, 3) sisteme conținînd emulsia fără substrat. Acești martori sînt necesari pentru a avea indicații asupra eventualei capacități de reducere proprii emulsiei în absența substratului și respectiv a substratului în absența emulsiei. Sistemele astfel pregătite sînt introduse la 37°C (termostat) și menținute 24 de ore, interval necesar ca TTC incolor și solubil să fie eventual transformat în TF roșu și insolubil. După acest interval se adaugă fiecărui sistem 3 cm^3 acetonă care solubilizează formazanul, (prelungirea timpului de menținere la 37° era necesară pentru evidențierea unei activități enzimatice atunci cînd se lucrează cu emulsii de densitate microbiană mică pentru a evita înglobarea în depozitul microbian a formazanului). Emulsia tratată cu acetonă este centrifugată supernatantul fiind folosit pentru determinarea fotometrică (fotometrul Pulfrich, filtru 50). Intensitatea de culoare este o măsură a oxidației în sistem. Se exprimă rezultatele în micrograme trifenilformazan/mg germeni (uscați).

REZULTATE

Rezultatele experimentale obţinute sînt totalizate în tabloul alăturat.

Tabloul nr. 1

Reducerea clorurii de trifeniltetrazoliu de către germenii anaerobi (valori exprimate în gama de trifenilformazan pe mg germeni uscaţi)

Substrat	*Cl. tetani*		*Cl. perfringens*		*Cl. oedematiens*		Vibrion septic	
	aerobioză	anaerobioză	aerobioză	anaerobioză	aerobioză	anaerobioză	aerobioză	anaerobioză
Serină	4	—	—	—	—	—	—	—
Prolină	6	—	—	—	—	—	—	—
Metionină	20	30	—	—	—	—	—	—
Arginină	—	—	—	—	—	—	—	—
Lizină	2	3	—	—	—	—	—	—
Valină	—	—	—	—	—	—	—	—
Ornitină	urme nedoz.	—	—	—	—	—	—	—
Triptofan	—	—	—	—	—	—	—	—
Leucină	urme nedoz.	—	—	—	—	—	—	—
Histidină	12	12	—	—	—	—	—	—
Glicocol	—	—	—	—	—	—	—	—
Tirosină	—	—	—	—	—	—	—	—
Fenilalanină	—	—	—	—	—	—	—	—
Acid glutamic	5	6	—	—	—	—	—	—
Acid aspartic	4,8	4	—	—	—	—	—	—
Alanina	urme nedoz.	—	—	—	—	—	—	—
Treonină	—	—	—	—	—	—	—	—
Citrulină	—	—	—	—	—	—	—	—
Glutamina	6	6	—	—	—	—	—	—
Acid piruvic	6	8	—	—	—	—	—	—
Acid alfa-ceto-glutaric	4	4	—	—	—	—	—	—
Cistina	—	—	—	—	—	—	—	—
Cisteina	15	25	—	—	—	—	—	—
Malat	6,2	—	—	—	—	—	—	—
Lactat	16	20	7,2	12	—	—	—	—
Fumarat	10	13	6	6,0	—	—	—	—
Malonat	12	12	5,8	6	—	—	—	—
Succinat	3	3	6	7	—	—	—	—
Glucoză	18	18	12	12	—	—	—	—
Galactoză	12	12	12	10	—	—	—	—
Riboză	12	12	—	—	—	—	—	—
Arabinoză	6	6	—	—	—	—	—	—
Xiloză	6	6	6	6	—	—	—	—
Ramnoză	6	6	6	6	—	—	—	—
Manoză	18	18	15	—	—	—	—	—
Zaharoză	12	12	6	6	—	—	—	—
Lactoză	12	18	18	9	—	—	—	—
Maltoză	12	12	7	7	—	—	—	—
Manită	12	12	6,8	4	—	—	—	—
Glucozamina	18	—	12	—	—	—	—	—
Acid glico-ronic	—	—	—	—	—	—	—	—
Ribonucleat	—	—	9	6	—	—	—	—

Din aceste date se evidenţiază următoarea comportare a germenilor cercetaţi de noi:

Clostridium perfringens. *Cl. perfringens* foloseşte ca substrat în reacţia de transfer de electroni pe TTC o serie de glucide: glucoza, galactoza, manoza, ramnoza, xiloza, zaharoza, lactoza, maltoza. Nu foloseşte riboza,

arabinoza, fucoza. Nu se constată o diferență de comportare în condiții aerobe și anaerobe, decît pentru manoză și glucozamină, unde apare în condiții de anaerobioză un fenomen de inhibiție. Glucozamina în absența germenilor reduce TTC cu aceeași intensitate, astfel că această reducere nu indică o eventuală funcțiune ca substrat a acestui aminozahar.

Cl. perfringens folosește ca substrat lactatul, malonatul, succinatul, manita, ribonucleatul. *Cl. perfringens* nu folosește nici un aminoacid ca substrat donator de hidrogen în reacția de transfer pe TTC prin intermediul flavienzimei. Aceasta este valabil atît în condițiile de aerobioză cît și în condiții de anaerobioză.

Clostridium tetani D_{21}. La *Cl. tetani* transferul hidrogenului substratului pe TTC are o extindere mult mai mare. Acest germene folosește în reacția de transfer mai multe substrate decît *Cl. perfringens*. Din grupa glucidelor folosește drept substrat glucoza, galactoza, riboza, arabinoza, xiloza, ramnoza, manoza, fucoza, zaharoza, lactoza, maltoza. Acțiunea de reducere în raport cu aceste substanțe se face însă cu intensități diferite. *Cl. tetani* folosește drept substrat o serie de aminoacizi și anume metionina, histidina, lizina, acid glutamic, acid aspartic, prolina, cisteina, slab ornitina, leucina și alanina. Folosește de asemenea ca substrat glutamina, malatul, lactat, malonat, succinat. În condiții anaerobe folosește ceva mai intens metionina, lizina, acidul glutamic, cisteina. Folosește mai intens în anaerobioză fumaratul și lactatul. Este folosit atît în condiții aerobe cît și anaerobe acidul piruvic, succinatul, alfa-ceto-glutaricul.

Clostridium oedematiens și vibrionul septic, spre deosebire de *Cl. perfringens* și în special *Cl. tetani* nu folosește nici unul din substraturile cercetate ca donator în reacția de transfer al hidrogenului pe TTC. Aceasta este valabil atît în condiții aerobe cît și în condiții anaerobe.

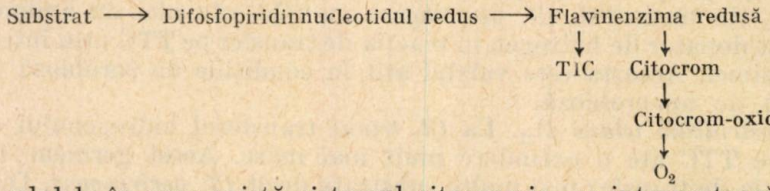
DISCUȚII

Deoarece cercetările efectuate cu sisteme enzimatice izolate [2] indică flavinenzimele ca fiind implicate în reducerea biologică a TTC, rezultatele obținute de noi la germenii anaerobi pot fi interpretate în felul următor : *Cl. oedematiens* și vibrionul septic (tulpinile examinate de noi) nu posedă sistemele enzimatice de tipul flavinenzimelor pentru nici unul din substratele controlate (aminoacizi, glucide, cetoacizi, diacizi tetracarbonici). Aceasta este valabil atît în condiții aerobe cît și anaerobe.

Cl. perfringens (tulpina A.S. 107. N.C.T. 5125) posedă acest tip de enzime numai în raport cu puține substrate aparținînd grupei glucidelor. Deosebirile de comportare în condiții de aerobioză și anaerobioză fiind minime. *Cl. tetani* (tulpina D_{21}) posedă în mai mare măsură decît toți germenii anaerobi cercetați, enzime care catalizează transferul hidrogenului de pe un număr important de substrate : diverși aminoacizi, glucide, cetoacizi. Deosebirile între comportarea în aerobioză și anaerobioză nu sînt marcate nici pentru acest germen.

Din datele obținute la diverșii germeni anaerobi apare o diferență de comportare în raport cu TTC ca acceptor de hidrogen, diferență care evidențiază deosebirile structurii enzimatice a acestor germeni. Sărurile de trifeniltetrazoliu s-au dovedit de altfel, valoroase în diferențierea speciilor bacteriene și a variantelor în interiorul speciei.

Reducerea TTC la TF de către *Cl. tetani* (în prezența unui număr important de substrate) și de către *Cl. perfringens* (în prezența unui număr mai redus de substrate) este un aspect care poate suscita anumite comentarii. În adevăr, experiențele efectuate cu enzime izolate au indicat următoarea schemă de competiție a TTC cu sistemul citocromic în raport cu flavinenzima redusă.



În celulele în care există sistemul citocromic se interpretează intervenția TTC ca sustrăgînd flavinenzimei reduse electronii, electroni care în chip normal sînt fixați de către citocromi, care îi transmit prin intermediul citocromoxidazei oxigenului molecular. Pentru această interpretare pledează observațiile unor serii de autori [3] care constată că aerarea prin agitare încetinește formarea de formazan. Kun [6] constată că în condiții aerobe are loc o întîrziere a reducerii TTC, probabil datorită competiției cu oxigenul molecular. Brodie și Gots [2] constată o inhibiție a reducerii TTC în condiții aerobe, inhibiție pe care însă o înlătură parțial prin creșterea pH-ului.

Absența sistemului citocromic la anaerobi și totuși reducerea la unii din ei, a sărurilor de trifeniltetrazoliu în prezența unor anumite substrate, cum este cazul la *Cl. tetani* și *Cl. perfringens*, indică existența la acești germeni a unui alt sistem acceptor care să intre în competiție cu TTC pentru electronii flavinenzimei, acceptor care nu transmite însă electronul oxigenului molecular, astfel cum se petrece în cazul celulelor aerobe prin sistemul citocromic. Pentru această interpretare pledează faptele constatate de noi că aerobioza nu modifică, în chip marcat, comportarea germenilor față de TTC. Substratele care nu sînt folosite ca donatori de hidrogen TTC-ului în aerobioză nu sînt folosite nici în anaerobioză, iar pentru substratele la care se pune în evidență acest transfer, intensitatea de reducere a TTC este foarte puțin diferită în aerobioză și anaerobioză. Condițiile de transfer al electronului de pe flavinenzime pe TTC, apar astfel independente de prezența oxigenului molecular în sistem. Existența flavinenzimelor la germenii anaerobi, evidențiată prin reducerea TTC ca acceptor specific al flavinenzimei reduse, pune și problema existenței mitocondriilor la acești germeni, deoarece se știe că în celulele animale sediul sistemului cicloforazic de oxidație în care intră și flavinenzimele, sînt mitocondriile. La unele bacterii, cum sînt micobacteriile, sediul activității enzimatice, evidențiată prin reducerea TTC, a fost localizat în adevăr în anumite granulații analoge mitocondriilor animale, ceea ce pune problema existenței acestora la bacterii în general [9].

CONCLUZII

1. S-a urmărit la germenii anaerobi *Cl. tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens*, *vibrionul septic*, reducerea clorurii de trifeniltetrazoliu în prezența unui număr mare de substrate diverse (aminoacizi, glucide, cetoacizi, diacizi tetracarbonici, amine etc.).

2. Comportarea acestor germeni față de clorura de trifeniltetrazoliu este diferită.

3. *Cl. perfringens* reduce clorura de trifeniltetrazoliu numai în prezența cîtorva glucide ca substrat (xiloză, ramnoză, manoză, zaharoză, lactoză, maltoză, glucoză, galactoză). Și în prezența altor substrate (lactat, fumarat, malonat, succinat, ribonucleat, manită). Nu reduce TTC în prezența nici unui aminoacid.

4. *Cl. tetani* prezintă cea mai extinsă capacitate de reducere, folosind ca substrate în reacția de reducere a TTC : aminoacizi (acidul aspartic, acidul glutamic, cisteina, histidina, metionina); glucide (glucoza, galactoza, riboza, arabinoza, xiloza, ramnoza, manoza, fucoza, zaharoza, lactoza maltoza), fumaratul, lactatul, malonatul, succinatul, acidul piruvic etc.

5. *Cl. oedematiens* și *vibrionul septic* nu reduc TTC pentru nici unul din substratele folosite (aminoacizi, glucide etc.).

6. Deoarece reducerea TTC în sistemele biologice este efectuată de către flavinenzima redusă, datele noastre experimentale indică la germenii cercetați de noi prezența unor flavinenzime la *Cl. tetani* și *Cl. perfringens* și absența acestor flavinenzime la *Cl. oedematiens* și *vibrionul septic.*

Comportamentul germenilor față de clorura de trifeniltetrazoliu este identică în condiții aerobe și anaerobe. Acest comportament poate fi explicat prin absența sistemului citocrom la bacteriile anaerobe, sistem care în celulele aerobe este acel care competitează cu TTC pentru electronul substratului și care la anaerobi este probabil înlocuit printr-un sistem acceptor diferit și independent de oxigenul molecular.

Laboratorul de chimie generală a Institutului „Dr. I. Cantacuzino", București

Prezentat la redacție la 20 ianuarie 1956

ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ПРИ ПОМОЩИ ХЛОРИДА ТРИФЕНИЛТЕТРАЗОЛА У АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторы преследовали цель восстановления хлористого трифенилтетразола (ТТС) анаэробными бактериями Cl. tetani, Cl. perfringens, Cl. oedematiens и септическим вибрионом в присутствии аминокислот, углеводов, кетоновых кислот и дикарбоциловых кислот.

Было установлено, что поведение бактерий различно. Cl. perfringens восстанавливает хлористый трифенилтетразол только в присутствии некоторых углеводов и молочной, фумаровой, малоновой, янтарной и рибонуклеиновой кислот; восстановление не происходит в присутствии какой бы то ни было аминокислоты.

Из всех бактерий Cl. tetani обладает самой большой восстановительной способностью.

Cl. oedematiens и септический вибрион не восстанавливают хлористый трифенилтетразол, каков бы ни был субстрат.

Так как восстановление хлористого трифенилтетразола в биологических системах осуществляется при помощи восстановленного флавинэнзима, данные, добытые путем опыта, указывают на присутствие флавин-

энзимов у Cl. tetani и Cl. perfringens и на отсутствие таковых у Cl. oedematiens и у септического вибриона.

Бактерии ведут себя одинаково в аэробных и анаэробных условиях, что объясняется отсутствием у анаэробных бактерий цитохромной системы, которая в аэробных клетках конкурирует с хлористым трифенилтетразолом в отношении электрона субстрата, и которая у анаэробов заменяется, по всей вероятности, иной воспринимающей системой, независимой от молекулярного кислорода.

L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME OXYDATIF À L'AIDE DU CHLORURE DE TRIPHÉNYLTÉTRAZOLIUM CHEZ LES GERMES ANAÉROBES

(RÉSUMÉ)

Les auteurs étudient la réduction du triphényltétrazolium chez quelques germes anaérobes, *Cl. tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens* et *vibrion septique*. Le substratum utilisé appartient à des groupements chimiques très différents : amino-acides, glucides ceto-acides, diacide-tétracarboniques.

Dans des conditions experimentales identiques le comportement de ces germes est très different : le tryphényltétrazolium est réduit par : *Cl. perfringens* en présence de quelques uns des glucides et des cetoacides, mais non en présence des aminoacides. *Cl. tetani* possède le pouvoir réducteur le plus étendu, en utilisant comme substratum de multiples aminoacides, glucides, cetoacides, *Cl. œdematiens* et le *vibrion septique* ne réduisent pas cet indicateur pour aucun de ces substratums.

Étant donné que dans les systèmes biologiques la réduction du tryphényltétrazolium est effectuée par la flavinenzyme réduite, les résultats expérimentaux indiquent la présence des flavinesenzymes, chez *Cl. tetani* et chez *Cl. perfringens*, et leur absence chez *Cl. oedematiens* et le *vibrion septique*.

Les germes ont presque le même comportement dans des conditions d'aérobiose et d'anaérobiose, ce qui s'expliquer par l'absence du système cytochrome chez les bactéries anaérobes, système qui dans les cellules aérobes est celui qui est en concurrence avec le tryphényltétrazolium, pour l'électron du substratum et qui dans le cas des anaérobes est probablement remplacé par un système accepteur différent et indépendant de l'oxygène moléculaire.

BIBLIOGRAFIE

1. Bielig, Kausche Haartrich, Ztschrft. Naturforsch., **4**, 80—91 (1949).
2. Brodie, Gots, Science, **114**, 40—41 (1950).
3. Fred, Kinght, Science, **109**, 169—170 (1949).
4. Hahn F. E., Naturwiss., **22**, 527, (1952).
5. Kun E., Jerchel, Ber., **74**, 949—952 (1941).
6. — Proc. Soc. Exptl. Biol. N.Y., **78**, 195 (1951).
7. Mattson, Jensen, Dutcher, Science, **106**, 294—295 (1947).
8. Schelton, Schneider, Anat. Record., **112**, 61—62, (1952).
9. Stuart, Mudd, Winterscheid L. C., Lameter E. D. de Henderson H. I., J. Bact., **62**, 459, 475 (1951).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

CERCETĂRI CONDUCTOMETRICE ASUPRA EXOSMOZEI ELECTROLIŢILOR DIN PIELE *)

NOTĂ PRELIMINARĂ

DE

ACADEMICIAN EUGEN MACOVSCHI ŞI SORIN COMOROŞAN

Organele animalelor şi plantelor, introduse în apă, pot ceda acesteia diferite substanţe anorganice şi organice. Fenomenul acesta de exosmoză se produce atît în cazul organelor integrate în organismul viu, cît şi pe organe izolate. Printre numeroasele cercetări efectuate în acest domeniu pot fi menţionate, de exemplu, acelea publicate de M. Magat [1], conform cărora muşchiul şi ficatul de şobolan şi de iepure cedează apei cantităţi diferite de fosfaţi, în funcţie de starea lor şi de condiţiile experimentale; la fel putem menţiona cercetările publicate de V. Stoletov, T. Proskurnikova şi E. Krînkina [2] cu privire la exosmoza glucidelor reducătoare din seminţele de grîu etc.

Într-o lucrare anterioară [3] s-a arătat că în anumite condiţii exosmoza diferitelor substanţe poate da indicaţii asupra desfăşurării proceselor biochimice în materialul biologic respectiv. Astfel, E. Macovschi şi V. Panaitide [4] urmărind exosmoza fosforului anorganic din seminţele grîului de toamnă în cursul iarovizării, au stabilit evoluţia raporturilor între intensitatea proceselor de hidroliză şi de sinteză a compuşilor organici fosforulaţi, iar E. Macovschi, O. Zaharia şi N. Moldoveanu [5] cu ajutorul exosmozei ionilor de amoniu din acelaşi material, au precizat unele etape ale metabolismului proteic.

Dat fiind faptul că *metoda exosmozei* permite urmărirea anumitor aspecte ale biochimismului în condiţiile de structură intactă a materialului biologic viu şi dat fiind că această metodă s-a aplicat la cercetarea evoluţiei proceselor biochimice din materialul vegetal, se impunea extinderea ei şi la materialul biologic de provenienţă animală. În acest scop am încercat să aplicăm metoda exosmozei pentru urmărirea proceselor biochimice din piele şi aceasta cu atît mai mult cu cît biochimismul pielii este încă prea puţin cunoscut.

Înainte însă de a începe cercetarea propriu-zisă, trebuia stabilit, în cadrul unor lucrări preliminare, atît felul compuşilor ce pot fi cedaţi de piele prin exosmoză fie apei, fie soluţiilor ce s-ar pune în contact cu

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 23 aprilie 1956.

ea, cît şi metodica de lucru şi condiţiile experimentale care să permită urmărirea exosmozei compuşilor respectivi. În acest scop am recurs întîi la electroliţi, a căror exosmoză s-ar putea urmări comod şi global, cu ajutorul măsurătorilor conductometrice.

După mai multe încercări prealabile, privind curăţirea pielei, suprafaţa de contact ce trebuia realizată între piele şi apa în care se va face exosmoza, volumul apei şi temperatura ei iniţială, durata contactului între apă şi piele, forma cea mai potrivită a vasului pentru asemenea lucrări şi modul de realizare a contactului între tegument şi lichid, ne-am oprit asupra următoarei tehnici de lucru :

Porţiunea pielii ce urmează a fi cercetată se şterge de cîteva ori cu un tampon de vată umectat în apă bidistilată, pentru îndepărtarea de pe suprafaţa pielii a diferitelor substanţe şi mai ales a electroliţilor ce rămîn prin evaporarea sudorii. La caz de nevoie (piele prea grasă sau murdară), curăţirea prin apa bidistilată poate fi precedată de o spălare cu săpun sau de o ştergere cu un tampon de vată îmbibat cu o soluţie de alcool-acetonă în proporţie de 1 : 1. Sînt însă cazuri cînd amestecul alcool-acetonă nu poate fi întrebuinţat, fie din cauza sensibilităţii regiunii respective a pielii, fie din cauza eventualelor leziuni sau afecţiuni dermatologice.

Un cristalizor mic, din sticlă Jena, cu margine şlefuită şi fără cioc, cu diametrul de 4,5 cm şi o capacitate de aproximativ 15 cm^3, se umple pînă la margine cu apă bidistilată la temperatura camerei, a cărei conductibilitate electrică specifică este bine să nu depăşească $70.10^{-7}\ \Omega^{-1}$. Peste acest vas se pune o foiţă subţire şi elastică de plexiglass sau celuloid, în aşa fel încît între ea şi apă să nu rămînă nici o bulă de aer ; apoi totul se aplică astfel, pe porţiunea pielii care urmează a fi cercetată, încît prin scoaterea atentă a foiţei să se realizeze contactul între apa cristalizorului şi suprafaţa pielii. Este evident că în cazurile cînd pielea poate fi aplicată direct pe suprafaţa apei din cristalizor, se poate renunţa la utilizarea foiţei.

O dată realizat contactul între tegument şi apa bidistilată din cristalizor, începe exosmoza electroliţilor din piele, durata căreia poate fi prelungită după dorinţă. Am constatat însă că la copiii pînă la 5—6 ani timpul de contact e bine să nu depăşească 10 minute — deoarece copiii nu au răbdare — iar la adulţi 15 minute ajung pentru a permite efectuarea comodă a măsurătorilor conductometrice. Este evident că urmărirea continuă a mersului exosmozei electroliţilor din piele în funcţie de timp, poate necesita un contact mult mai prelungit între piele şi apa din cristalizor ; pentru asemenea cercetări însă, în locul cristalizorului simplu trebuie folosită o celulă de conductometrie cu doi electrozi, de o construcţie specială, ceea ce va forma obiectul unei alte lucrări.

După trecerea celor 10 respectiv 15 minute de contact între piele şi apă, cristalizorul se îndepărtează în aşa fel încît să se evite pierderile de lichid, folosindu-se la nevoie intercalarea prealabilă a foiţei elastice menţionate. Apoi apa din cristalizor poate fi utilizată pentru măsurarea conductibilităţii electrice.

În acest scop am întrebuinţat o celulă de conductometrie model Arrhenius, cu doi electrozi de platin — platinaţi (platinarea prealabilă cu o soluţie de 3% clorură de platin şi 0,02—0,03% acetat de plumb [6] *)). Celula a avut următoarele caracteristici : electrozi în formă de

*) p. 195.

disc, cu diametrul 1 cm, grosimea 1 mm, așezați orizontal la distanța de aproximativ 3 mm și o constantă a vasului egală cu 0,05344. Dimensiunile vasului de sticlă și distanța electrozilor de la fundul lui erau de așa natură, încît permiteau determinarea conductibilității pe aproximativ 3—4 cm^3 lichid.

Ca aparatură am folosit un triiodometru R.F.T. (din R.D.G.), iar determinările le-am efectuat la 25°C, plasînd celula de conductometrie într-un ultratermostat Hoeppler, deși pentru scopuri medicale curente se poate folosi o aparatură mult mai simplă, ca de exemplu un conductometru cu cască, în montaj Kohlrausch, ultratermostatul Hoeppler fiind înlocuit printr-o bae cu apă, în care temperatura poate fi menținută suficient de constantă, în limita timpului necesar unei măsurători. După fiecare determinare, celula se spală cu apă bidistilată și se usucă la suflător.

Pentru determinarea conductibilității electrice specifice am recurs la metoda de lucru curentă [6] *), calculul fiind făcut după formula:

$$\lambda_s = K \cdot \frac{100 - n}{R \cdot n} - \lambda_a$$

în care: K reprezintă constanta vasului,
n — distanța citită la punte, în centimetri,
R — rezistența din circuit, în ohmi,
λ_a — conductibilitatea electrică specifică a apei bidistilate.

Tabloul nr. 1

Conductibilitatea electrică specifică a apei din cristalizor, după exosmoză, în unele experiențe efectuate între august și decembrie 1955, pe oameni sănătoși

Durata exosmozei: 15 min adulți; 10 min copii
$T = 25°C$ $K = 0,05344$

	Nr. crt.	R	n	λ_a	λ_s
Bărbați	1	2400	50,4	69.10^{-7}	150.10^{-7}
	2	1700	50	46.10^{-7}	268.10^{-7}
	3	1400	50,2	$40,10^{-7}$	339.10^{-7}
Femei	1	3000	50,1	48.10^{-7}	128.10^{-7}
	2	2700	50	45.10^{-7}	153.10^{-7}
	3	2100	49,7	52.10^{-7}	205.10^{-7}
Copii (pînă la 4 ani)	1	3050	50	68.10^{-7}	108.10^{-7}
	2	2700	50,3	38.10^{-7}	160.10^{-7}
	3	2350	49,7	26.10^{-7}	204.10^{-7}

*) p. 181 și următoarele.

Unele rezultate, obţinute pe diferite porţiuni ale pielii de om sănătos, sînt reprezentate în tabloul nr. 1.

După cum rezultă din tabloul nr. 1 şi mai ales dintr-o serie de alte măsurători, conductibilitatea electrică specifică a apei din cristalizor, după 15 minute de exosmoză, prezintă la bărbaţi valori cuprinse între 150—350 $\times$ $\times 10^{-7}\Omega^{-1}$, la femei între 100—220 $\times 10^{-7}\Omega^{-1}$, iar la copii după 10 minute de exosmoză, între 100—220 $\times 10^{-7}\Omega^{-1}$. Prin urmare, în condiţiile experimentării noastre, la bărbaţi pielea cedează apei, în general, o cantitate mai mare de electroliţi decît la femei.

Valorile conductibilităţii electrice specifice care se obţin în felul acesta, se reproduc destul de bine. În adevăr, mai multe măsurători, efectuate pe acelaşi om şi aproximativ pe aceiaşi porţiune a pielii, în zile diferite, dau valori de acelaşi ordin de mărime.

Cîteva exemple sînt cuprinse în tabloul nr. 2.

Tabloul nr. 2

Conductibilitatea electrică specifică a apei din cristalizor, după 15 minute de exosmoză, în unele experienţe efectuate în zile diferite, pe acelaşi om şi aceeaşi regiune a pielii (pe antebraţ)

$T = 25°C$ $K = 0{,}05344$

Nr. crt.	Bărbat S. C.		Nr. crt.	Femeie G.V.	
	Data	λ_s		Data	λ_s
1	XI—1955	240.10^{-7}	1	XI—1955	162.10^{-7}
2	XII—1955	250.10^{-7}	2	XII—1955	148.10^{-7}
3	I—1956	238.10^{-7}	3	I—1956	138.10^{-7}
4	II—1956	269.10^{-7}	4	II—1956	183.10^{-7}

Dată fiind reproductibilitatea acceptabilă a rezultatelor măsurătorilor şi dat fiindcă valorile ce se obţin la oameni sănătoşi cad în limite destul de înguste, s-a deschis perspectiva pentru extinderea unor astfel de măsurători în diferite cazuri patologice. Pentru început, am efectuat o serie de determinări în unele afecţiuni dermatologice, aplicînd cristalizorul cu apa direct pe locul lezat şi anume, în cazuri de eczeme, lepra cutanată, sclerodermie şi psoriazis.

Datele obţinute, dintre care unele sînt trecute în tabloul nr. 3, arată limpede că porţiunile afectate ale pielii, prezintă o exosmoză a electroliţilor ce diferă, în general, destul de mult faţă de valorile ce se obţin la oameni sănătoşi. Astfel, de exemplu, în cazuri de eczeme, se constată în unele cazuri o creştere, iar în altele o scădere a conductibilităţii faţă de normal; la psoriazis, valorile sînt net crescute; la lepra cutanată, conductibilitatea e mult micşorată faţă de normal, iar la sclerodermie se obţin valori scăzute pe porţiunea afectată şi crescute pe cea normală. Dacă se determină exosmoza electroliţilor la aceiaşi bolnavi, dar pe locuri nelezate ale pielii situate simetric faţă de cele lezate, se obţin valori ce cad în limitele normale (vezi tot tabloul nr. 3).

Important de menţionat este şi faptul că primele noastre investigaţii în acest domeniu, ne-au permis să constatăm că intensitatea exosmozei electroliţilor din piele se schimbă în funcţie de evoluţia stării patologice şi că exosmoza electroliţilor de pe porţiunea lezată a pielii tinde spre valori normale, pe măsura vindecării. Ca exemplu, dăm în tabloul nr. 4 cîteva din rezultatele preliminare obţinute în cazuri de eczeme, înainte şi după

tratament. Dependența între intensitatea exosmozei electroliților, forma clinică a maladiei, substratul anatomo-patologic, evoluția afecțiunii și schimbările de metabolism la nivelul leziunilor, vor forma obiectul altor lucrări.

Tabloul nr. 3

Conductibilitatea electrică specifică a apei din cristalizor, după 15 minute de exosmoză, pe regiunea afectată și pe regiunea normală simetrică a pielii aceluiași om

$T = 25°C$ $K = 0{,}05344$

Afecțiunea	Inițialele pacienților și sexul	Data determinării	Locul leziunii	λ_s pe locul lezat	λ_s pe regiunea nelezată
Eczeme	F.E. b.	XII—1955	antebraț	497.10^{-7}	247.10^{-7}
	M.M. f.	XI—1955	antebraț	495.10^{-7}	200.10^{-7}
	D.N. b.	III—1956	picior	117.10^{-7}	243.10^{-7}
	C.A. f.	IX—1955	picior	65.10^{-7}	150.10^{-7}
Psoriazis	B.I. f.	II—1956	antebraț	583.10^{-7}	160.10^{-7}
	T.E. f.	XI—1955	antebraț	501.10^{-7}	170.10^{-7}
Lepră cutanată	P.F. f.	XII—1955	antebraț	90.10^{-7}	212.10^{-7}
	B.I. b.	XII—1955	antebraț	59.10^{-7}	183.10^{-7}
	T.M. b.	I—1956	palmă dorsală	80.10^{-7}	178.10^{-7}
	S.V. f.	X—1955	antebraț	72.10^{-7}	142.10^{-7}
Sclerodermie	I.N. f.	XII—1955	picior	80.10^{-7}	380.10^{-7}

Tabloul nr. 4

Conductibilitatea electrică specifică a apei din cristalizor după 15 minute de exomoză, pe regiunea afectată a pielii înainte și după tratament

$T = 25°C$ $K = 0{,}05344$

Afecțiunea	Inițialele pacientului și sexul	Locul leziunii	Determinarea pe locul lezat		Determinarea pe același loc, vindecat	
			Data	λ_s	Data	λ_s
Eczema	T.E. f.	antebraț	XI—1955	294.10^{-7}	XII—1955	147.10^{-7}
„	F.E. b.	palmă dorsală	I—1956	490.10^{-7}	II—1956	240.10^{-7}
„	M.M. f.	antebraț	I—1956	420.10^{-7}	II—1956	200.10^{-7}

Din moment ce prin metoda descrisă aici se obțin valori destul de reproductibile pentru exosmoza electroliților din aceleași regiuni ale pielii la același individ, din moment ce valorile obținute pe pielea normală la indivizi diferiți cad în limite destul de înguste („valori normale"), din moment ce porțiunile pielii cu afecțiuni diferite, cum ar fi : eczema, psoriazisul, lepra cutanată și sclerodermia prezintă valori ale exosmozei mai mici sau mai mari decît cele normale, și din moment ce procesul de vindecare a porțiunilor lezate ale pielii este însoțit de revenirea la normal a valorilor exosmozei — rezultă că metoda exosmozei promite să găsească aplicații practice în cercetarea diferitelor afecțiuni dermice; alături de

probele clasice, ea va ajuta eventual atît la stabilirea diagnosticului, cît şi la urmărirea procesului de vindecare, iar faptul că efectuarea cercetării se face rapid şi comod în condiţii fiziologice, fără nici o intervenţie asupra bolnavului, pare să prezinte un real avantaj.

Rezultatele de mai sus, deşi provizorii, permit să se întrevadă pentru metoda exosmozei şi alte aplicaţii. Astfel, vom încerca aplicarea ei în afara bolilor de piele, în acele maladii generale care au repercusiuni asupra integrităţii sau troficităţii tegumentului, ca : anumite afecţiuni contagioase, nervoase, endocrine (hipotiroidii, Basedow, Addison) unele boli interne ca icterul etc. ; vom încerca să urmărim procesul devitalizării tegumentului din momentul morţii, în vederea stabilirii timpului optim pentru recoltarea de ţesuturi (grefe tisulare) ; vom face de asemenea, investigaţii în probleme de igienă, ca adaptarea muncitorilor la condiţii speciale de muncă (temperaturi înalte sau joase, atmosfere toxice etc.), ş.a.m.d. Dar în afară de toate acestea, sperăm că metoda exosmozei va deschide perspective noi pentru cercetarea evoluţiei proceselor biochimice din pielea normală şi patologică, procese atît de puţin cunoscute azi.

Mulţumim directorului Clinicii dermato-venerologice Colentina din Bucureşti, prof. dr. Ştefan Teodorescu şi dr. Pavel Vulcan, pentru ajutorul dat la efectuarea cercetărilor pe bolnavi, şi directorului Casei copilului nr. 1, dr. Mauriciu Leibovici pentru ajutorul dat la stabilirea valorilor normale ale exosmozei electroliţilor la copii.

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.

Prezentat la redacţie la 16 mai 1956

КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКЗОСМОСА ЭЛЕКТРОЛИТОВ КОЖИ

Предварительное сообщение

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Авторы исследовали кондуктометрическим путем экзосмос электролитов кожи : была разработана методика работы, установлены экспериментальные условия, позволяющие применение ее в клинике, указаны перспективы, открывающиеся перед исследованием биохимизма кожи в нормальном и патологическом состоянии, в результате применения предлагаемого метода.

Было доказано, что значения электропроводности, получаемые методом, описанным в работе, воспроизводятся достаточно хорошо, что значения, получаемые в различное время, также являются воспроизводимыми, и что значения, полученные на здоровых людях, снижаются в довольно узких пределах. Было доказано также, что экзосмос электролитов в пораженных участках кожи значительно разнится от экзосмоса в нормальных участках, и что интенсивность экзосмоса кожных электролитов изменяется в зависимости от изменений патологического состояния, стремясь к нормальным значениям по мере излечения.

В настоящей работе исследовался экзосмос электролитов кожи при следующих заболеваниях: разных экземах, псориазисе, кожной форме проказы и склеродермии.

Полученные результаты, хотя и являются предварительными, все же позволяют предвидеть различные применения метода экзосмоса как в клинике (эндокринные, нервные, заразные и прочие заболевания), так и при всевозможных исследованиях в области гигиены труда (специальные условия работы), в области физиологии человека и животных, в области пересадки кожи и т. д,

RECHERCHES CONDUCTOMÉTRIQUES RELATIVES À L'EXOSMOSE DES ÉLECTROLYTES DE LA PEAU

NOTE PRÉLIMINAIRE

(RÉSUMÉ)

Les auteurs ont étudié par voie conductométrique l'exosmose des électrolytes renfermés dans la peau. Ils ont établi une méthode de travail, déterminé les conditions expérimentales permettant son application en clinique et montré les perspectives qui s'ouvrent par l'application de cette méthode, pour l'étude du biochimisme de la peau, à l'état normal et pathologique.

Ils ont trouvé que les valeurs de la conductibilité électrique spécifique que l'on obtient par la méthode décrite dans la présente étude se reproduisent assez bien, que les valeurs que l'on obtient à des dates différentes sont également reproductibles et que les valeurs obtenues chez les individus bien portants sont comprises dans des limites assez étroites. Ils ont encore montré que l'exosmose des électrolytes des parties malades de la peau présente des différences appréciables par rapport à l'exosmose des parties normales, et que l'intensité de l'exosmose des électrolytes de la peau varie en fonction de l'état pathologique, tendant vers des valeurs normales au fur et à mesure de la guérison.

Au cours de ce travail, ils ont étudié l'exosmose des électrolytes de la peau dans les affections suivantes : différents eczémas, psoriasis, lèpre cutanée et sclérodermie.

Les résultats obtenus, bien que provisoires, permettent d'entrevoir pour la méthode de l'exosmose différentes applications en clinique humaine (maladies endocrines, nerveuses, contagieuses, etc.), ainsi que dans différentes recherches du domaine de l'hygiène du travail (conditions spéciales de travail), de la physiologie humaine et animale, de la transplantation de la peau, etc.

BIBLIOGRAFIE

1. M. MAGAT, *O proniţaemosti normalnoi i rekovoi cletki. Problema proniţaemosti.* Moscova–Leningrad, 1939, 170.
2. V. STOLETOV, T. PRESKURNIKOVA, E. KRÎNKINA, *O nekotorîh obmennih profesah v prorastaiuscem i sozrevaiuscem zerne pşeniţi.* Problemi biohimii v miciurinskoi biologhii, 151 (1941).

3. E. MACOVSCHI, *Exosmoza ca mijloc de cercetare a evoluţiei proceselor biochimice în seminţele plantelor de cultură şi rolul ei în stimularea şi germinarea acestor seminţe.* Comunicările Acad. R.P.R., **V**, *8*, 1171 (1955).
4. E. MACOVSCHI, V. PANAITIDE, *Exosmoza fosforului anorganic din seminţele grîului de toamnă* A_{15} *în cursul iarovizării.* Comunicările Acad. R.P.R., **V**, *5*, 811 (1955).
5. E. MACOVSCHI, O. ZAHARIA, N. MOLDOVEANU, *Evoluţia glutenului şi a ionilor de amoniu ca aspecte ale metabolismului proteic din seminţele grîului de toamnă* A_{15} *supuse iarovizării.* Bul. ştiinţ. Acad. R.P.R., Secţiunea de ştiinţe biologice, agronomice, geologice şi geografice, **V**, *2*, 190 (1955).
6. I. LILIACOV, *Metode fizico-chimice de analiză.* Ed. tehnică, Bucureşti 1953, 181, 195.

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

CONTRIBUŢII PRIVIND BIOCHIMIA LIPOPROTEIDELOR *)

DE

ANA EPERJESSY, ÁRPAD KISS,
IOLANDA CSEGEDI, EMERIC MAKKAI şi LADISLAU NEMES

INTRODUCERE

Cercetările de istochimie şi mai ales cele de biochimie au dovedit că lipoproteidele extrase din diversele organe sînt în unele privinţe asemănătoare, iar în altele deosebite. Deosebirea dintre ele se explică de ce ele nu se comportă la fel în diferite stări funcţionale.

În această lucrare ne vom ocupa atît de asemănările dintre lipoproteide, cît mai ales de deosebirile dintre ele. În ce constau deosebirile dintre lipoproteidele extrase şi cele care se pun în evidenţă în organe? Deosebirile sînt complexe; presupunem că aceste deosebiri se datoresc, pe de o parte, naturii diferite a componenţilor simplexului lipoproteic, iar pe de altă parte, deosebirile s-ar putea datora stării de agregare fizice sau chimice din interiorul simplexului. De aceste deosebiri depind într-o măsură oarecare unele din proprietăţile lor.

Cele afirmate mai sus rezultă pe de o parte din lucrarea lui E. Annau, A. Eperjessy şi colaboratori [1], pe de altă parte din comparaţia acestor rezultate cu acele ale lui M. A. Macheboeuf [2].

E. Annau, A. Eperjessy şi colaboratori au arătat că pot exista lipoproteide asemănătoare, de exemplu cele din ficatul şi splina bovideelor. Structura acestora nu este identică, dar este asemănătoare. Lipoproteidele din splina şi ficatul bovideelor dau valori apropiate în ceea ce priveşte conţinutul lipidic total, fosforul lecitinic ca şi în privinţa colesterolului total. Dar din punct de vedere analitic, lipoproteidele din ficat şi splină se deosebesc de datele obţinute de Macheboeuf asupra lipoproteidelor din plasma sanguină de cal (fracţiunea A_9).

A. Eperjessy şi colaboratori [3] au adîncit în lucrările lor anterioare, relaţiile dintre structura lipoproteidelor şi proprietăţile lor oxidative. Ei au arătat că lecitina pură, în soluţie tamponată de fosfaţi, la pH = 7,38 şi la temperatura de 37° C prezintă un coeficient respirator mai redus sau mai crescut în raport cu concentraţia sa. Acest coeficient

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 23 aprilie 1956.

este modificat cînd, în soluţia de mai sus, se adaugă amoniac (tabloul nr. 1).

Tabloul nr. 1

Nr.	Experienţă	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Control	100	98	0,98	
		88	87	0,99	0,98
		77	74	0,99	
2	Lecitină 2 mg	125	74	0,59	
		150	90	0,60	0,69
		100	60	0,60	
		148	86	0,58	
3	Lecitină 2 mg	125	112	0,89	
	NH_4Cl 5 mg	132	110	0,83	0,85
		94	78	0,83	
		117	100	0,85	

Ei au arătat de asemenea că substratul proteic poate modifica proprietăţile oxidative ale simplexului lipoproteic. S-a lucrat cu ovalbumină cristalizată şi cu peptonă Witte. Cu ajutorul acestora şi al lecitinei pure s-a creat un lipoproteid artificial [4]. Ovalbumina pură, în soluţie tamponată de fosfaţi, la acelaşi pH = 7,38 şi la aceiaşi temperatură, nu influenţează coeficientul respirator. Nici peptona nu influenţează acest coeficient. Simplexul lecitină-ovalbumină, în aceeaşi soluţie, la acelaşi pH şi la aceeaşi temperatură, influenţează coeficientul respirator, fiind apropiat de acel dat de soluţia de lecitină pură în concentraţie de 2 mg (deşi în cazul simplexului conţinutul lipidic este numai de 1,04 mg lecitină). In simplexul format între ovalbumină şi lecitină, dar în care ambii componenţi au fost într-o proporţie de circa 10 ori mai redusă, faţă de prima experienţă, coeficientul respirator se ridică spre valori normale. Menţinînd cantitatea de lecitină, ca în ultima experienţă, dar formînd un simplex cu peptonă, se obţin cifre mai scăzute decît în simplexul cu ovalbumină (tabloul nr. 2).

Aceasta demonstrează că structura şi greutatea moleculară a proteinei au o influenţă netă asupra proprietăţilor oxidative ale simplexului lipoproteic artificial.

În lucrarea de faţă am extins cercetările noastre asupra relaţiilor dintre structura lipoproteidelor şi proprietăţile lor oxidative, studiind în acest scop lipoproteidele cerebrale şi ale plasmei sanguine de bovine. Rezultatele obţinute în cursul acestei lucrări au fost comparate cu cele obţinute anterior de noi şi de M a c h e b o e u f.

Cu această ocazie am verificat ipoteza lui A. V. P a l l a d i n [5] care susţine că : „fosfolipidele nu sînt substanţe inerte, după cum se considera pînă în prezent, ci participă activ în metabolismul creierului". Noi vom căuta să demonstrăm că acelaşi lucru se poate afirma şi despre lipoproteide.

MATERIAL

Ca material am folosit creier şi sînge de bou, luat proaspăt de la abator, pus la gheaţă imediat după extragere. Acest material a început

să fie prelucrat la cel mult o oră după prelevare. S-a luat creier și sînge numai de la vite adulte, sănătoase.

Tabloul nr. 2

Nr.	Experiență	O_2	CO_2	RQ	Val. medie
1	Control	131	127	0,97	0,97
		130	127	0,97	
2	Lecitină 2 mg	148	86	0,58	
		150	90	0,60	0,58
		162	88	0,54	
		178	104	0,58	
3	Lecitină 1 mg	118	89	0,76	
		116	96	0,82	0,84
		115	102	0,88	
		130	120	0,92	
4	Lecitină 0,5 mg	102	90	0,88	
		148	134	0,90	
		130	120	0,92	0,85
		114	104	0,91	
5	Ovalbumină substanță uscată 1 mg	163	152	0,97	
		96	92	0,95	0,95
		124	118	0,94	
		97	92	0,95	
6	Ovalbumină-lecitină, substanță uscată 2,98 mg. Conținutul lipidic 1,04 mg	81	44	0,54	
		152	101	0,66	0,57
		178	93	0,52	
		174	95	0,54	
7	Ovalbumină-lecitină, substanță uscată 1,49 mg. Conținut lipidic 0,52 mg	155	115	0,74	
		143	110	0,76	0,75
		177	126	0,71	
		195	150	0,77	
8	Ovalbumină-lecitină, substanță uscată 0,29 mg. Conținut lipidic 0,10 mg	162	142	0,87	
		148	120	0,81	0,84
		136	114	0,85	
		191	160	0,83	
9	Peptonă Witte 1,00 mg	141	126	0,89	
		125	135	1,08	0,99
		141	134	0,95	
		128	134	1,04	
10	Peptonă-lecitină, substanță uscată 1,04 mg. Conținut lipidic 0,25 mg	208	111	0,53	
		142	119	0,49	0,57
		138	71	0,51	
		182	91	0,50	
11	Peptonă-lecitină, substanță uscată 0,52 mg. Conținut lipidic 0,127 mg	133	91	0,68	
		155	103	0,66	0,67
		152	105	0,61	
		212	255	0,73	

METODE

În această lucrare s-au folosit următoarele metode :

1. ***Extragerea lipoproteidelor*** din organe s-a făcut cu metoda lui Macheboeuf din 1927 [2], modificată de noi.

Macheboeuf precipită cu sulfat de amoniu. Noi am precipitat lipoproteidele noastre cu alcool 96%. S-a procedat astfel : un kg de creier de bou, proaspăt, curăţit de meninge, a fost frecat cu 100 g nisip de cuarţ, bine spălat în prealabil. S-a obţinut o pastă la care s-a adăugat un litru alcool 96°, răcit la —20° C. S-a lucrat numai iarna în cameră neîncălzită, cu geamuri deschise. Soluţia alcoolică era lăsată în repaus timp de 2—3 ore. După aceea, partea de deasupra şi depozitul au fost centrifugate separat la o centrifugă, la 3500—4000 turaţii pe minut, timp de 15—20 minute. Se separă supranatantul din toate centrifugatele. Aceste centrifugate s-au pus la un loc. S-a acidulat cu o soluţie normală de SO_4H_2 menţinîndu-se la pH = 3,7. Precipitatul abundent format sub formă de fulgi se separă prin centrifugare tot la aceiaşi turaţie. Precipitatul se spală cu puţină apă distilată şi se neutralizează cu ajutorul unei soluţii normale de NaOH. Precipitatul se dizolvă complet la pH = 7,0. Precipitarea s-a repetat de 2—3 ori şi din 1000 g creier de bou, după uscare, la o temperatură de 37° C la exsicator, la vid cu apă, s-au obţinut 2,5—3 g de lipoproteide cerebrale.

Cu aceeaşi metodă a lui Macheboeuf, modificată de noi, am extras lipoproteidele din sînge de bou.

2. *Determinarea lipidelor* din lipoproteidele creierului şi plasmei de bou s-a făcut cu metoda Kumagawa-Suto [6]. N-am modificat nimic din tehnica propusă de autorii japonezi.

3. *Determinarea colesterolului* din lipoproteide s-a făcut cu ajutorul metodei lui L. Jendrassik [7]. Aceasta reprezintă o modificare a metodei clasice cu digitonină a lui Windaus.

4. *Determinarea fosforului din lipoproteide*, s-a făcut prin metoda lui Sörensen, citat după [5], modificată de Macheboeuf. Modificarea lui Macheboeuf nu ne-a dat satisfacţie, de aceea, la rîndul nostru, am introdus unele modificări, ca rezultat al unui număr destul de mare de încercări. Mineralizarea cu acid sulfuric, (la Kjeldahl), a fost efectuată cu ajutorul unui refrigerent cu reflux. După mineralizare, precipitarea s-a făcut după metoda lui Macheboeuf [8]. Modificarea introdusă de noi exclude evaporarea unor subtanţe volatile a căror prezenţă sau absenţă schimbă datele analitice. După introducerea acestei modificări am obţinut rezultate constante.

5. *Determinarea azotului* din lipoproteide s-a făcut cu micro-metoda Kjeldahl, după tehnica clasică.

6. Pentru *determinarea proprietăţilor oxidative* ale lipoproteidelor cerebrale şi plasmatice am folosit metoda Warburg, după modificarea pe care am făcut-o în 1944 [1]. Această modificare constă din :

Pentru experienţele noastre ne-am folosit de ficat de şobolan, care a fost ţinut nemîncat timp de 24 ore. După decapitarea şobolanilor am scos imediat ficatul şi l-am aşezat, prealabil, spălat de sînge, pe o hîrtie de filtru imbibată cu o soluţie de pH = 7,4. Din ficat am tăiat felii subţiri. Din aceste felii am cîntărit cît se poate de repede 0,20 g în vase respiratoare, dinainte tarate, în care a fost pregătită şi soluţia respiratoare, care este o soluţie fosfat tampon de pH = 7,38. În vasul lateral, în formă de pară, am pus acid sulfuric diluat la 50%, în cantitate de 0,30 ml. Dinainte am stabilit cantitatea de lichid în vasul respirator de 3 ml. Noi am completat cu soluţia de lipoproteid înainte fixată cu 0,3 ml acid sulfuric 50% şi cu soluţia tampon pînă la cantitatea fixă de 3 ml.

Ca să putem stabili pe lîngă consumul de oxigen și producția de bioxid de carbon, am aplicat următoarea metodă : am întrebuințat în experiențele noastre vase speciale, prevăzute în interior cu un suport, în care am așezat la mijloc fiola în care am pus un sul de hîrtie de filtru îmbibată cu 3—4 picături de soluție alcalină Barcroft.

Experiențele le-am făcut întotdeauna în cîte 6—8 aparate Warburg, dintre care 3 ne-au servit pentru control, pentru stabilirea cantității de bioxid de carbon, care se află preformat în acest sistem. Vasele respiratoare înzestrate cu manometre le-am așezat în baie de apă la 37° C și le-am scuturat pînă la restabilirea temperaturii constante. Ridicarea presiunii cauzate de diferența de temperatură am egalat-o prin deschiderea robinetului manometrului și apoi închizîndu-l numaidecît. După 15 minute am scurs din vasele laterale, în formă de pară, acidul sulfuric în vasele respiratoare, prin aplicarea lor, eliberînd bioxidul de carbon și în același timp am distrus feliile de ficat supraviețuitoare. După aceea am scuturat încă timp de 15 minute manometrele pentru eliberarea bioxidului de carbon. Manometrele întrebuințate în experiențele principale le-am adus prin metoda descrisă mai sus la un echilibru de nivel și după aceea am lăsat să respire agitînd timp de 45 de minute. După acest interval, pentru stabilirea consumului de oxigen am citit poziția manometrelor și am scurs acidul sulfuric în vasele laterale.

După cele 15 minute necesare pentru eliberarea bioxidului de carbon am scos manometrele din baia de apă, le-am demontat în cel mai scurt timp posibil și, cu ajutorul unei pense, am scos din caliciu, sulul alcalinizat. Ambele le-am plasat într-un vas Warburg, de o capacitate de 40 ml, în care, anticipat, am pus 3,5 ml apă bidistilată și în vasul lateral s-au introdus 0,5 ml acid sulfuric în proporție de 50 la 50 volum la sută și în vasul principal am pus 2—3 picături de fenolftaleină alcoolată. Vasele astfel pregătite le-am așezat la manometru și le-am așezat din nou în baia de apă. Cu robinetele închise am scuturat timp de 15 minute pentru egalizarea diferenței de presiune. Tot cu robinetele închise am scos manometrul din apă, am turnat acidul sulfuric din para laterală în vasul principal și am agitat cu precauție avînd grijă ca să nu ajungă lichidul în capilarul manometrului. După acest procedeu le-am așezat în baia de apă. După restabilirea temperaturii am citit manometrul. Agitarea manometrelor în unele cazuri a trebuit repetată de mai multe ori.

REZULTATELE

1. *Proprietățile fizice ale lipoproteidelor.* Lipoproteidele din creier, sub formă uscată, se prezintă ca o pulbere amorfă, neunsuroasă la pipăit, de culoare galbenă-brună deschis. Același aspect îl prezintă lipoproteidele din sîngele de bou.

Lipoproteidele cerebrale puse în apă distilată se umflă, la pH = 7 se dizolvă ușor, la temperatură ambiantă, dînd o soluție opalescentă. Soluția apoasă de lipoproteide cerebrale, încălzită la 60°C se limpezește complet. Prin răcire, opalescența soluției reapare. Sub influența căldurii, proteinele din lipoproteide nu se coagulează. Lipoproteidele pot fi precipitate în soluție apoasă cu ajutorul sărurilor de sulfat de amoniu. Precipitarea este

reversibilă. Precipitatul tratat cu o soluţie alcalină de NaOH normal se redizolvă cînd se atinge pH = 7,0.

S-a făcut şi determinarea zonei de floculaţie. Din mol/15 soluţie tamponată de fosfaţi s-au luat 10—10 ml. La aceasta s-a adăugat 1 ml dintr-o soluţie de lipoproteid 1%. Prin variaţia pH-ului am stabilit că zona de floculaţie se observă la pH = 4,52 şi se menţine încă la pH = 5,91.

Lipoproteidele din plasma sanguină de bou sînt sensibile şi ele faţă de săruri şi mai ales faţă de sulfatul de amoniu, clorură de sodiu în soluţie saturată.

Zona de floculaţie a lipoproteidelor plasmatice : soluţia prezintă o opalescenţă la pH = 4,15, iar floculaţia apare la pH = 4,30, floculaţia cea mai puternică s-a putut constata la pH = 6,05, opalescenţa a mai persistat şi la pH = 6,60. Soluţiile au o zonă de floculaţie destul de extinsă.

Feinschmidt a atras atenţia mai de mult asupra faptului că zona de floculaţie a solurilor de lecitină se extinde foarte mult în urma adăugării albuminei.

2. *Proprietăţi biologice.* Pentru determinarea felului cum influenţează lipoproteidele coeficientul respirator puteam să procedăm la experienţe cu pulbere dizolvată de lipoproteide. De aceea am folosit o metodă care ne permite să determinăm influenţa lipoproteidelor asupra proceselor oxidative din ţesuturile vii, după cum am arătat la capitolul precedent. Reamintim că etalonul nostru a fost celula vie din ficatul de şobolan albinos, inaniţiat timp de 24 de ore. După cum reiese din tabloul nr. 3 coeficientul respirator al ţesutului hepatic de şobolan albinos, ţinut în inaniţie timp de 24 de ore este de 0,99.

Tabloul nr. 3

Nr.	Experienţă	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Control	131	134	1,02	
		116	115	0,99	0,99
		139	137	0,98	
2	Lipoproteidă cerebrală cu conţinut lipidic 42,5 g%	112	45	0,40	
	Substanţă uscată 3,10 mg	79	26	0,33	0,36
	Conţinut lipidic 1,30 mg	72	27	0,37	
3	Lipoproteidă cerebrală cu conţinut lipidic 42,5 g%	87	33	0,37	
		99	37	0,37	0,33
	Substanţă uscată 3,05 mg	86	26	0,30	
	Conţinut lipidic 1,28 mg	98	31	0,31	
4	Lipoproteidă cerebrală cu conţinut lipidic 42,5 g%	112	68	0,60	
		148	71	0,54	0,56
	Substanţă uscată 2,5 mg	136	81	0,59	
	Conţinut lipidic 1,07 mg	117	60	0,51	
5	Lipoproteidă cerebrală cu conţinut lipidic 42,5 g%	92	84	0,91	
		126	128	1,00	0,89
	Substanţă uscată 1,22 mg	110	95	0,86	
	Conţinut lipidic 0,51 mg	126	103	0,82	

Toate experiențele redate în cele 15 tablouri ale lucrărilor de față sînt făcute pe ficatul de șobolan (inaniția timp de 24 de ore) și examinat *in vitro*. La fiecare probă s-au folosit totdeauna cîte 0,20 g ficat la care s-au adăugat substanțele a căror acțiune asupra respirației o studiem.

Adăugarea unei soluții de lipoproteidă cerebrală cu conținut lipidic de 42,5 g% la soluția de mai sus, modifică coeficientul respirator. Această modificare pare legată de cantitatea și de natura compușilor simplexului lipoproteidelor cerebrale. În tabloul nr. 3 se vede, că variația lipidelor totale din lipoproteidele extrase influențează procesele oxidative din ficat. Cînd concentrația totală în lipide se ridică la 1,30—1,28 mg lipide (în lipoproteidul extras), valoarea coeficientului respirator scade la o treime. Cînd conținutul lipidic scade la 1,07 mg, coeficientul respirator se ridică la 0,56. La un conținut lipidic de 0,51 mg valoarea coeficientului respirator crește apropiindu-se de valoarea normală. Datele de mai sus privesc lipoproteidele cerebrale.

Lipoproteidele plasmatice se comportă aproximativ la fel, după cum reiese din tabloul nr. 4.

Tabloul nr. 4

Nr.	Experiență	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Control	138 128 108	142 116 134	1,02 0,90 1,07	0,99
2	Lipoproteidă plasmatică de bovină cu conținut lipidic 38,31 g% Substanță uscată 3,93 mg Conținut lipidic 1,50 mg	157 182 160	66 74 69	0,49 0,40 0,40	0,43
3	Lipoproteidă plasmatică de bovină cu conținut lipidic 38,31 g% **Substanță uscată 2,62 mg** **Conținut lipidic 1,00 mg**	199 198 176	75 83 97	0,43 0,44 0,48	0,45
4	**Lipoproteidă plasmatică de bovină cu conținut lipidic 38,31 g%** Substanță uscată 1,31 mg Conținut lipidic 0,50 mg	176 150 167	124 125 119	0,70 0,83 0,71	0,74
5	Lipoproteidă plasmatică de bovină cu conținut lipidic 38,31 g% Substanță uscată 0,65 mg Conținut lipidic 0,24 mg	181 249 211	194 256 211	1,07 0,91 1,00	0,99

Din datele tabloului nr. 4 se constată, că la concentrații mari în lipide coeficientul respirator scade mult, iar la concentrații mici coeficientul respirator se ridică. Însă, variațiile în cazul lipoproteidelor plasmatice nu prezintă reacții așa de nete ca în cazul celor cerebrale. Așa de exemplu, o concentrație în lipide de 1,00 pînă la 1,50 mg lipide, dau aceeași scădere a coeficientului respirator. Trebuie să trecem de la 0,5 la 0,25 mg lipide ca să obținem valori normale ale coeficientului respirator.

În tabloul nr. 5 vom arăta comportarea şi modificările pe care le produce amoniacul dacă este adăugat în experienţele noastre cu ficat inaniţiat, la care s-a adăugat o soluţie de lipoproteide cerebrale sau sanguine.

Tabloul nr. 5

Nr.	Experienţă	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Lipoproteidă cerebrală cu conţinut lipidic 42,5 g%	148	99	0,63	
	Substanţă uscată 2,5 mg	146	90	0,61	0,62
	Conţinut lipidic 1,07 mg	168	108	0,63	
	Clorură de amoniu 3,0 mg				
2	Lipoproteidă cerebrală cu conţinut lipidic 42,5 g%	89	91	1,02	
	Substanţă uscată 2,5, mg	100	98	0,98	0,99
	Conţinut lipidic 1,07 mg	88	87	0,99	
	Clorură de amoniu 5,0 mg	77	74	0,96	

Tabloul nr. 6

Nr.	Experienţă	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Lipoproteidă plasmatică cu conţinut lipidic 38,31 g%	189	122	0,61	
	Substanţă uscată 3,93 mg	163	104	0,63	0,64
	Conţinut lipidic 1,50 mg	167	115	0,68	
	Clorură de amoniu 3,87 mg				
2	Lipoproteidă plasmatică de bovină cu conţinut lipidic 38,31 g%	134	124	0,92	
	Substanţă uscată 3,93 mg	108	110	1,01	0,94
	Conţinut lipidic 1,50 mg	123	110	0,89	
	Clorură de amoniu 5,0 mg				

Aceste experienţe completează pe cele anterioare, deoarece se ştie că amoniacul degajat din săruri de amoniac intensifică arderea acizilor graşi [3]. Din adăugarea a 3 mg amoniac la un conţinut lipidic constant de 1,07 mg valoarea coeficientului s-a ridicat de la 0,56 la 0,63. Considerăm că această creştere este neînsemnată. Cînd însă s-a adăugat 5 mg amoniac, menţinîndu-se conţinutul lipidic constant, s-a obţinut o ridicare pînă la 0,98—0,99 a coeficientului respirator (valoarea normală).

Lipoproteidele serului sanguin, adăugate în soluţia cu ficat se comportă ca şi cele din creier, cînd se adaugă amoniac.

Atragem atenţia că lipoproteidele hepatice nu reacţionează la amoniac. Această deosebire de comportare subliniază deosebirile dintre lipoproteidele organelor, despre care am vorbit în introducere şi reiese din tabloul nr. 7.

REZULTATELE ANALITICE

Determinările analitice ale lipoproteidelor cerebrale şi sanguine arată o destul de mare asemănare între ele şi în acelaşi timp, deosebiri faţă de lipoproteidele ficatului şi splinei (tabloul nr. 8 şi 9).

În privinţa conţinutului total, deosebirile între creier, ficat, splină, plasmă sanguină de bou şi de cal, fracţiunea A_9, a lui Macheboeuf nu

Tabloul nr. 7

Nr.	Experiență	0_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Control	97	100	1,03	
		63	60	0,95	0,97
		135	129	0,95	
2	Lipoproteidă hepatică cu conținut lipidic 39,7%	98	45	0,46	
	Substanță uscată 7,6 mg	81	40	0,50	0,46
	Conținut lipidic 3,01 mg	146	63	0,43	
3	Lipoproteidă hepatică cu conținut lipidic 39,7%	100	50	0,50	
	Substanță uscată 3,1 mg	112	58	0,51	0,50
	Conținut lipidic 1,23 mg				
4	Lipoproteidă hepatică cu conținut lipidic 39,7%	128	58	0,39	
	Substanță uscată 8,0 mg	143	86	0,40	0,38
	Conținut lipidic 3,17 mg	136	54	0,39	
	Clorură de amoniu 5,00 mg	146	53	0,36	

Tabloul nr. 8

Nr.	Conținut lipidic total	Colesterol	Fosfor	Lecitină	Azot
1	41,60	9,17	1,311	Calculat din conținut de fosfor	9,047
2	42,56	9,60	0,914		8,905
3	41,98	9,28	1,018		9,362
4	44,48	8,94	0,904		9,047
5	40,71	9,36	1,018		8,861
6	44,03		1,120		9,699
Medie :	42,56	9,27	1,017	25,49	9,23

Tabloul nr. 9 *)

	Lipoproteida cerebrală	Lipoproteida lui Macheboeuf fracțiunea A_3	Lipoproteida hepatică	Lipoproteida splenică	Lipoproteida serului de bovin
Conținut lipidic total	42,56	36,42	39,79	40,05	38,31
Colesterol	9,29	11,29	1,98	2,22	9,8
Fosfor	1,017	0,94	1,25	1,21	1,03
Lecitină	25,49	23,62	31,37	30,37	26,83
Azot	9,3	**)	**)	**)	10,47

*) Datele sînt exprimate în g %.
**) Nu s-au efectuat determinări.

sînt prea mari. Creierul prezintă un conținut mai bogat în lipide totale decît celelalte organe (42,56 g%). În ordine descrescîndă vin splina (40,05 g%), ficatul (39,79 g %), plasma de bou (38,31 g%) și plasma de cal (36,42 g%). Aproape același lucru se poate spune și despre conținutul în fosfor al lipoproteidelor acestor organe și țesuturi. De data aceasta, cel mai bogat în fosfor este ficatul, urmat apoi de splină, plasmă de bou, creier și plasmă de cal. Bogăția în lecitină urmează aceeași curbă, numai că diferențele ponderale se amplifică.

Deosebiri mari observăm însă în privința conținutului în colesterol al lipoproteidelor. Cifra cea mai ridicată este dată de plasma de cal (11,28 g%, după M a c h e b o e u f), urmat îndeaproape, în ordine descrescîndă de plasma de bou (9,80 g%) și de creier (9,27 g%). Splina și ficatul arată un conținut redus în colesterol : 2,22 g% în splină și 1,98 g% în ficat.

Azotul din lipoproteidele creierului și plasmei de bou dau cifre apropiate. Nu a fost determinat în lucrările precedente azotul în ficat și splină.

Din datele tablourilor nr. 8 și 9 rezultă că lipoproteidele hepatice și cele splenice, în cazurile examinate de noi, sînt foarte asemănătoare între ele și apropiate, din punct de vedere analitic, și al comportării lor față de procesele oxidative. Pe de altă parte, aproape același lucru îl putem spune despre lipoproteidele creierului, plasmei de bou și a fracțiunii A_9 a lui Macheboeuf, din plasma de cal. Din cele de mai sus se vede că lipoproteidele cerebrale și plasmatice se deosebesc mult de lipoproteidele hepatice și splenice.

Din cercetările noastre rezultă deci că putem distinge două categorii de lipoproteide. O categorie este formată din lipoproteidele cerebrale și cele din plasmă sanguină. O altă categorie este constituită din lipoproteidele hepatice și cele splenice.

În lucrările noastre anterioare și în această lucrare ne-am ocupat mai mult de componența lipo-sterolică a simplexului lipoproteic și mai puțin de componența proteică. Ne propunem să analizăm mai mult acest ultim component, în lucrările noastre viitoare.

DISCUȚII

Scopul lucrărilor noastre anterioare și scopul acestei lucrări este de a scoate în evidență importanța lipoproteidelor în metabolismul substanței vii.

Lipoproteidele au fost puțin studiate, ele intră în compoziția fiecărei celule. Lipoproteidele din substanța vie, joacă uneori un rol energetic, participînd activ în procesele regulatoare ale arderilor. Pe lîngă rolul energetic, lipoproteidele au un rol plastic, fiind unul din componenții protoplasmei. În cercetările de pînă acuma noi ne-am ocupat în mod exclusiv de rolul energetic al lipoproteidelor. În această privință am adus cîteva contribuții modeste.

Lipoproteidele intervin de asemenea în metabolismul altor molecule organice. Într-o lucrare anterioară, din 1947 [3], am arătat că lipoproteidele hepatice și splenice, în prezența amoniacului, nu scad procesele oxidative ale celulei hepatice vii. Pe cînd lipoproteidele creierului și ale plasmei de bou, a fracțiunii A_9 a lui Macheboeuf din plasma de cal, au

o acțiune contrară. Ele ridică coeficientul respirator și ard ca și glucidele în prezența amoniacului. Această proprietate nouă, necunoscută pînă acuma, ne arată încă una din funcțiile pe care lipoproteidele le au în organism, ca și deosebirile de comportare dintre lipoproteidele din diferite organe. Din punctul de vedere al proceselor oxidative, lipoproteidele creierului și ale plasmei se comportă altfel decît cele ale splinei și ficatului.

Am încercat pe lîngă acesta să determinăm felul cum lipoproteidele intervin în procesele energetice și schimbările care se petrec în interiorul simplexului în cazul unor asemenea procese.

După cum am afirmat mai înainte, pînă acum ne-am ocupat mai mult de componenții lipo-sterolici ai simplexului lipoproteic. Lipidele din lipoproteidele hepatice se degradează oxidativ în prezența compușilor din celula hepatică vie. Această degradare se manifestă prin scăderea coeficientului respirator al țesutului hepatic, scădere care este determinată de arderea acizilor grași din molecula lipoproteidelor. Noi presupunem că arderea se face pe socoteala acizilor grași din molecula monoamino-monofosfatidelor, sau a diamino-monofosfatidelor. Vom căuta pe viitor să elucidăm felul cum participă fiecare din aceste molecule în procesul arderii acizilor grași. Procesul nu este însă un proces chimic simplu. În acest proces credem că intervin în mod activ fenomene fizico-chimice, legate de modul de agregare fizică a compușilor simplexului. Presupunem că lipidele formează un strat monomolecular la suprafața proteinei din simplex. Această ipoteză ne explică posibilitatea creării condițiilor necesare intensificării arderilor celulare, prin suprafața mai mare pe care o oferă simplexul, în aceste condiții. Pentru a verifica această ipoteză noi am preparat lipoproteide artificiale. Aceste lipoproteide artificiale s-au preparat după indicațiile date de Przylecky (1936) [4].

Lipoproteidele artificiale constituite din ovalbumină sau peptonă Witte și lecitină pură, se comportă în mod analog cu simplexele naturale (tabloul nr. 2). Ele influențează în același fel procesele oxidative din celula hepatică vie.

Modelele simple, realizate de noi, ne-au permis să interpretăm rezultatele obținute privitor la comportarea lipoproteidelor naturale din celula hepatică vie, în cultură *in vitro*.

Ipoteza de mai sus am verificat-o studiind comportarea emulsiei de lecitină pură și de lecitină legată de proteine în simplexul nostru artificial. Emulsia de lecitină pură este mai greu atacată și degradată decît lecitina din lipoproteidele artificiale și din cele naturale. Aceasta dovedește că lecitina în lipoproteide, se găsește într-o stare fizică, care o face mai ușor atacabilă de factorii regulatori ai arderilor celulare. În lucrările noastre viitoare vom căuta să adîncim primele rezultate obținute de noi, studiind proprietățile fizico-chimice ale componenților simplexului lipoproteic.

Din experiențele relatate mai sus ar rezulta că lipoproteidele dispersate pe suprafața proteinelor ar interveni în mod viu în metabolismul substanțelor grase. Dacă comparăm activitatea oxidativă a lipoproteinelor cu aceea a unei lecitine pure vedem că lecitina din lipoproteine prezintă o intensitate oxidativă mult mai mare decît lecitina pură.

În alte lucrări [9] am studiat comportarea componenților moleculei lipidelor în procesele oxidative. Vom începe cu expunerea rolului acizilor grași în aceste procese.

S-au studiat acizii grași saturați (palmitic, stearic) și acizii grași nesaturați cu o legătură dublă (acidul oleic) cu două legături duble (acidul linolic) și cu trei legături duble (acidul linolenic). Am constatat că acizii palmitic, stearic și oleic au un comportament foarte asemănător unii cu alții. Acești trei acizi grași formează un grup unitar, cu interrelații strînse între ei. Toți acești trei acizi scad valoarea coeficientului respirator de la valoarea normală 0,99 la valori pe jumătate și chiar mai mici decît 0,50 (tabloul nr. 10).

Tabloul nr. 10

Nr.	Experiențe	O_2	CO_2	*RQ*	Val medie
1	Control	174	157	1,06	
		114	120	1,05	
		128	117	0,99	0,99
		126	109	0,85	
2	Palmitat de sodiu mol/100	192	126	0,65	
		188	114	0,60	
		120	70	0,58	0,60
		117	70	0,59	
		151	84	0,55	
3	Stearat de sodiu mol/100	118	57	0,48	
		136	53	0,46	
		130	52	0,47	0,47
		103	51	0,49	
		122	61	0,50	
		104	58	0,43	
4	Oleat de sodiu mol/100	148	48	0,32	
		126	55	0,43	
		164	69	0,42	0,45
		132	66	0,50	
		135	75	0,55	
		83	41	0,48	

Acidul linolic ne dă valori foarte apropiate de acești trei acizi (între 0,45 și 0,60). Dacă amestecăm cantități egale de acid oleic cu acid linolic, rezultatele se schimbă. Acești doi acizi împreună ard ca și glucidele; coeficientul respirator se apropie de 1,0 și chiar depășește această valoare (tabloul nr. 11).

Experiențele acestea ale noastre confirmă experiențele făcute de S k r a u p (1939) [10] pe cîine. Acest autor a arătat că animalele sărace în glicogen nu-și modifică de loc coeficientul respirator, dacă la alimentația lor se adaugă acid linolic. Dacă însă în alimentația lor se adaugă un amestec de acizi grași saturați, atunci valoarea coeficientului respirator se ridică la cifra care se obține numai prin arderea hidraților de carbon. Deci, acidul linolic în metabolismul lipoidelor are un rol important.

E. A n n a u [11], într-o lucrare a lui, a demonstrat că în țesuturile hepatice *in vitro* în prezența clorurii de amoniu, mai ales în prezența concomitentă a acidului piruvic, se formează corpuri cetonice.

Această observație a dat naștere la acea ipoteză, că amoniacul poate avea un rol important în metabolismul lipidelor, adică ușurează degradarea mai accentuată a acestora.

Coeficientul respirator al țesutului hepatic *in vitro* în prezența clorurii de amoniu se diminuează considerabil, ca și în prezența oricărui acid din grupul acidului oleic. Acesta este un semn că se petrece degradarea acidului gras.

Dacă la experiența noastră, concomitent cu adăugarea clorurii de amoniu adăugăm și acid linolic, coeficientul respirator, care cu fiecare

Tabloul nr. 11

Nr.	Experiențe	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Linolat de sodiu mol/100	132	61	0,45	
		122	62	0,50	
		107	73	0,68	
		122	62	0,50	
		198	114	0,57	0,54
		132	61	0,45	
		106	74	0,69	
		100	55	0,55	
2	Oleat de sodiu mol/100	99	113	1,14	
	Linolat de sodiu mol/100	79	87	1,10	
		139	137	0,98	1,05
		116	152	1,15	
		112	117	1,04	
		120	112	0,92	
		108	134	1,07	

în parte, atît cu acidul linolic, cît și cu clorura de amoniu era scăzut, în prezența amîndorura s-a ridicat spre normal, ceea ce arată că adăugarea acidului linolic îi dă o altă direcție arderii lipidelor în prezența amoniacului din sărurile de amoniu (tabloul nr. 12).

Tabloul nr. 12

Nr.	Experiențe	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Clorură de amoniu 10 mg	131	69	0,51	
		104	58	0,56	
		121	60	0,50	0,51
		142	71	0,50	
		131	66	0,50	
		90	46	0,51	
2	Clorură de amoniu 10 mg	83	70	0,84	
	Linolat de sodiu mol/100	86	64	0,87	
		120	105	0,87	0,85
		119	100	0,84	
		94	77	0,82	
		87	64	0,87	

Acidul linolenic nu are asemenea influență, căci coeficientul respirator în prezența concomitentă a acidului linolenic și a clorurii de amoniu scade la fel ca și în absența acidului linolenic.

Ţesuturile hepatice *in vitro* numai în prezenţa acidului linolenic îşi măresc valoarea coeficientului respirator (tabloul nr. 13).

Tabloul nr. 13

Nr.	Experienţe	O_2	CO_2	RQ	Val. medie
1	Clorură de amoniu 10 mg	160	77	0,48	
	Linolenat de sodiu mol/100	134	71	0,52	
		143	79	0,55	0,51
		128	70	0,54	
		110	55	0,50	
		77	37	0,49	
2	Linolenat de sodiu mol/200	109	141	1,28	
		111	133	1,20	
		110	111	1,11	1,12
		132	140	1,06	
		137	167	1,21	
		101	111	1,07	

Dacă coeficientul respirator este aşa de mare, este natural că şi consumul de oxigen în raport cu producerea CO_2 se măreşte. Cauza acestei cantităţi mari a CO_2 nu s-a putut încă constata.

Am studiat de asemenea acţiunea compuşilor amoniacului în comparaţie cu compuşii azotaţi din moleculele lipidelor [12]. Am studiat acţiunea unor substanţe ca : colina, colamina-clorhidrică, trietanolamina-hidroclorică, iodură de tetrametilamoniu asupra proceselor oxidative. Trietanolamina în concentraţia 2.10^{-5} mol scade coeficientul respirator de la 0,99 la 0,20 şi 0,15.

Colamina în concentraţia 4.10^{-5} mol scade valoarea coeficientului respirator mult mai puţin (0,60), în concentraţie de $2{,}5.10^{-5}$ mol, scade valoarea coeficientului respirator la 0,4 (în medie).

Iodura de tetrametilamoniu, în concentraţie de 2.10^{-5} mol scade coeficientul respirator pînă la 0,73, iar iodura de tetrametilamoniu în concentraţie de 10^{-5} mol nu influenţează valoarea coeficientului respirator. C. H. Best şi colaboratori [13] au arătat că alchil-aminele din molecula fosfatidelor joacă un rol de regulator în metabolismul lipidelor (tabloul nr. 14).

Datorită faptului că dintre aminele examinate de noi cele mai active au fost alcanol-aminele, putem presupune că această activitate este strîns legată de funcţiunea lor alcoolică. Best şi Huntsman [13], A. P. Platt [14] cu ocazia studierii derivaţilor colinici au atras atenţia asupra proprietăţii activante a grupului de hidroxil alcoolic. Ipoteza este susţinută şi de faptul că dintre alcanol-aminele studiate de noi cea mai activă s-a prezentat trietanolamina cu cele trei grupe oxietilice, întrucît în prezenţa unei soluţii molare de 2.10^{-5}, cu un consum constant de oxigen, producţia de CO_2 a ţesuturilor hepatice *in vitro* a scăzut cu 80%.

Noi ne îndoim că scăderea valorii coeficientului respirator, aşa de accentuată, ar fi datorită numai arderii pronunţate a lipidelor, mai verosimil este că sub influenţa aminelor, concomitent cu oxidarea pronunţată a lipidelor, valoarea oxidativă a hidraţilor de carbon scade la valoarea minimă.

Această teorie este confirmată de experiențele noastre, cu ocazia cărora adăugînd simultan la țesuturile hepatice *in vitro*, etilamină, colină

Tabloul nr. 14

Nr.	Experiențe	0^2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Control	131	127	0,97	0,98
		128	117	0,99	
2	Clorhidrat de trietanol-amin. 2.10^{-5} mol	152	31	0,20	
		152	20	0,13	
		122	18	0,14	0,19
		214	52	0,24	
		202	50	0,24	
3	Clorhidrat de colamină 4.10^{-5} mol	180	110	0,61	0,63
		170	112	0,65	
4	Iodură de tetrametilamoniu 2.10^{-5} mol	79	58	0,73	
		61	44	0,72	0,72
		139	112	0,73	
5	Iodura de tetrametilamoniu 10^{-5} mol	122	109	0,89	
		138	127	0,91	0,90
		174	163	0,93	

sau trietilamină cu hidrați de carbon (difosfat de hexoză), valoarea coeficientului respirator rămîne la fel de scăzută ca și în lipsa hidraților de carbon.

Tabloul nr. 15

Nr.	Experiențe	O_2	CO_2	*RQ*	Val. medie
1	Control	134	124	0,92	0,96
		108	110	1,01	
2	Difosfat de hexoză 3,6 mg	132	152	1,15	
		134	144	1,47	1,37
		133	152	1,49	
3	Difosfat de hexoză 3,6 mg Clorhidrat de trietanolamina 10^{-5} mol	165	33	0,20	
		92	21	0,22	
		102	23	0,22	0,22
4	Difosfat de hexoză 3,6 mg Clorhidrat de colină 10^{-5} mol	196	111	0,56	
		183	97	0,53	0,59
		165	113	0,68	
5	Difosfat de hexoză 3,6 mg Clorhidrat de etilamină 10^{-5} mol	111	57	0,51	
		163	77	0,47	0,49
		149	73	0,49	

Dimpotrivă, prezența difosfatului de hexoză ridică valoarea coeficientului respirator peste unitate. Dovedind prin aceasta, că în absența unui surplus de amine, metabolismul glucidelor este normal (tabloul nr. 15).

Din experienţele noastre rezultă, că în reglarea chimică a metabolismului lipidic, aminele alchilice, respectiv alcanol-aminele au rol hotărîtor.

Acţiunea lor este dublă; pe de o parte, inhibă metabolismul hidraţilor de carbon, iar pe de altă parte, stimulează oxidarea lipidelor, asigurînd nivelul energetic al organismului şi prin aceasta funcţiunea lor normală.

Rezultatele studiilor expuse mai sus ne explică rolul pe care l-ar putea avea colesterolul şi unii din acizii graşi nesaturaţi în procesele oxidative, în organe. I. P e r l m a n n şi I. L. C h a i k o f f [15] au demonstrat că metabolismul fosfatidelor hepatice scade sub influenţa colesterolului. Noi am fi înclinaţi să punem în legătură această proprietate a colesterolului cu conţinutul în această substanţă a lipoproteidelor studiate de noi în diferite organe. Ne propunem să verificăm şi această ipoteză.

Ni se pare verosimil, pe baza cercetărilor noastre, să considerăm că acizii graşi nesaturaţi care intră în cantitate mare în compoziţia lipoproteidelor cerebrale ar putea avea un rol important în oxidarea biologică a lipoproteidelor cerebrale, ca şi în cea a plasmei sanguine.

Acizii graşi nesaturaţi din lipoproteidele cerebrale şi plasmatice ar putea să aibă o importanţă mai mare în procesele oxidative decît colesterolul.

În tabloul nr. 5 am arătat că lipoproteidele cerebrale şi cele plasmatice, în prezenţa clorurii de amoniu, ard la fel ca şi glucidele. În această privinţă, putem spune acum că, lipoproteidele cerebrale şi plasmatice, în prezenţa clorurii de amoniu, se comportă la fel ca şi acizii graşi nesaturaţi cu două duble legături.

În dinamica scoarţei cerebrale relaţiile descrise mai înainte ar putea să aibă o importanţă deosebită. Într-adevăr, autorii sovietici au arătat că prin excitarea sistemului nervos se produce o eliberare a unei cantităţi mari de amoniac. Aceasta ar accelera arderea lipidelor, dacă nu s-ar manifesta acţiunea antagonistă a acizilor graşi nesaturaţi [16].

Cercetările noastre confirmă această ipoteză dovedind că într-adevăr amoniacul creşte valoarea coeficientului respirator al lipidelor cerebrale şi plasmatice ca şi amestecul de acizi graşi nesaturaţi cu acizi graşi saturaţi, sau de acizi graşi nesaturaţi cu amoniac (tablourile nr. 10, 11, 12 şi 13). Din aceste confirmări reiese în mod clar, după părerea noastră, rolul important şi complex al lipoproteidelor cerebrale şi plasmatice care, prin componenţii lor se manifestă în procesele energetice, ca un mecanism regulator al arderilor celulare.

Cercetările expuse mai sus, constituie un modest început al studiului lipoproteidelor în principalele organe şi ţesuturi ale organismului mamiferelor. Noi ne propunem să continuăm acest studiu, concentrîndu-ne atenţia asupra moleculei proteice ca şi asupra proprietăţilor fizico-chimice ale acestor interesante simplexe lipoproteice. Cercetările noastre contribuie să arate că lipoproteidele joacă un rol important în procesele oxidative din substanţa vie.

Institutul farmaceutic,
Tg.-Mureş

Prezentat la redacţie la 15 februarie 1956

К ВОПРОСУ ОБ ИССЛЕДОВАНИИ БИОХИМИИ ЛИПОПРОТЕИДОВ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

1. Синтетические липопротеиды яичного белка пептона Витте и Лецитина ведут себя аналогично природным симплексам; они деградируются так же, как и природные от воздействия печоночной ткани *in vitro*.

2. В тех же условиях эмульсии лецитина менее подвержены воздействию.

3. Липоиды липопротеидов различных органов (кровь, печень, селезенка и мозг) окислительно деградируются различным образом в присутствии химических соединений, содержащихся в живой печоночной клетке. Эта деградация проявляется в уменьшении дыхательного коэффициента печеночной ткани.

4. Мозговые липопротеиды из кровяной сыворотки быка и из фракции A_9 Машбефа были добавлены *in vitro* к печеночной ткани от истощенных голодом крыс. Эти липопротеиды ведут себя точно также в присутствии хлористого аммония. Под их влиянием дыхательный коэффициент приближается к нормальному значению. В этом случае липопротеиды сгорают как углеводы, в то время как печеночные липопротеиды не реагируют в присутствии аммонийных солей.

5. Из аналитических определений вытекает, что мозговые и кровяные липопротеиды обнаруживают значительное взаимное сходство и, в то же время, отличаются от липопротеидов печени и селезенки.

6. Жирные кислоты, насыщенные и ненасыщенные, с одной лишь двойной связью, снижают значение дыхательного коэффициента с 0,99 (нормальное значение) наполовину, а иногда и больше.

7. Линолевая кислота дает значения, приближающиеся к значениям, даваемым вышеупомянутыми кислотами, но если смешать равные количества олеиновой и линолевой кислот, то значение дыхательного коэффициента повышается, приближаясь к нормальному.

8. При одновременном присутствии линолевой кислоты и аммиака дыхательный коэффициент возрастает до нормального значения, в то время как при раздельной обработке этими веществами получаются пониженные значения дыхательного коэффициента.

9. Линоленовая кислота сама по себе повышает значение дыхательного коэффициента, но, если совместно присутствуют хлористый аммоний и линоленовая кислота, дыхательный коэффициент снижается до 50%.

10. Алкиловые амины, соответственно алканоламиины (холин, холамин, триэтаноламин), понижают дыхательный коэффициент. Это свойство тесно связано с их спиртовой функцией. Наиболее активным является триэтаноламин с тремя оксиэтиловыми группами. Благодаря триэтаноламину потребление кислорода является постоянным, а количество образующейся двуокиси углерода падает на 80%.

CONTRIBUTIONS À L'ÉTUDE DE LA BIOCHIMIE DES LIPOPROTÉIDES

(RÉSUMÉ)

1. Les lipoprotéides synthétiques obtenues avec de l'albumine d'œuf, de la peptone de Witte et de la lécithine se comportent de la même manière que les simplex naturels ; elles sont dégradées tout comme les produits naturels par le tissu hépatique *in vitro*.

2. Dans les mêmes conditions, les émulsions de lécithine sont moins attaquées.

3. Les lipides des lipoprotéides des différents organes (foie, rate, cerveau) ainsi que du sang se dégradent par oxydation d'une manière différente en présence des composés de la cellule hépatique vivante. Cette dégradation se manifeste par la baisse du coefficient respiratoire du tissu hépatique.

4. Les lipoprotéides du cerveau, du sérum sanguin de bœuf et de la fraction A_9 de Macheboeuf ont été ajoutées au tissu hépatique *in vitro*, — tissu provenant de rats tombant d'inanition. Ces lipoprotéides se comportent identiquement en présence de chlorure d'ammonium. Sous leur influence, le coefficient respiratoire approche de la valeur normale. Dans ce cas, les lipoprotéides brûlent comme les glucides, tandis que les lipoprotéides hépatiques ne réagissent pas en présence des sels d'ammonium.

5. Il ressort des déterminations analytiques que les lipoprotéides du cerveau et du sang montrent une grande ressemblance entre elles et en même temps des différences par rapport aux lipoprotéides du foie et de la rate.

6. Les acides gras, saturés ou non, ayant une seule liaison double, font baisser de moitié et parfois davantage la valeur du coefficient respiratoire, dont la valeur normale est de 0,99.

7. L'acide linolique fournit des valeurs proches de celles des acides mentionnés plus haut, mais si nous mélangeons des quantités égales d'acide oléique et d'acide linoïque, la valeur du coefficient respiratoire augmente et approche de la valeur normale.

8. En présence simultanée d'acide linoïque et d'ammoniaque, le coefficient respiratoire atteint la normale, tandis que si nous les administrons séparément on obtient des valeurs plus faibles du coefficient respiratoire.

9. L'acide linolénique, seul, augmente le coefficient respiratoire, mais en présence simultanée de chlorure d'ammonium et d'acide linolénique QR baisse d'environ 50%.

10. Les amines alkyliques, respectivement les alcanolamines (choline, cholamine, triéthanolamine) font baisser le coefficient respiratoire. Cette activité est étroitement liée à leur fonction alcoolique. La plus active est la triéthanolamine qui possède trois groupes exéthyliques. La triéthanolamine maintient constante la consommation d'oxygène, tandis que la production de CO^2 baisse de 80%.

BIBLIOGRAFIE

1. E. ANNAU, A. EPERJESSY, E. MIHÁLYI, ZS ZATHURECZKI, E. M. E. Orvostudományi Szakosztálya Értesitöje, 59 (1945).
2. M. A. MACHEBOEUF, Thése Fac. Sci, Paris, (1927).
3. ZS. ZATHURECZKY, A. EPERJESSY, E. MIHÁLYI, Zschrift f. Physiol. Chemie, **282** (1947).
4. ST. I. PRZYLECKY, MYRBACK-BAUMANN, Die Meth. des Ferment fr., **I**, 458.
5. A. V. PALLADIN, *Biochimia creierului*, 1954.
6. M. KUMAGAWA, K. SUTO, B. Z., **8**, 212 (1908).
7. JENDRASSIK, M. TASS, B. Z., 1940.
8. M. MACHEBOEUF, Thése Fac. Sci., Paris, (1928).
9. E. ANNAU, A. EPERJESSY, ZS. ZATHURECZKY, Zschrift f. Phys. Chemie, **279** (1943).
10. S. SKRAUP, F. STIECK, J. SCHORN, Zschrift f. Physiol. Chemie, **259**, 1 (1939).
11. E. ANNAU, Zschrift f. Physiol. Chemie, **224**, 141 (1934).
12. A. EPERJESSY, ZS. ZATHURECZKY, Zschrift f. Physiol. Chemie, **282**, (1947).
13. C. H. BEST, J. HUNTSMAN, J. Physiol., **75**, 405 (1932).
14. A. P. PLATT, Biochem. J., **33**, 505 (1939).
15. I. PERLMANN, I. L. CHAIKOFF, J. Biol. Chem., **128**, 735 (1939).
16. L. A. PLOTNIKOVA, *Unele date privind biochimia creierului*, în *„Citoarhitectonica scoarței creierului uman"*, **VIII**, 169–187 (1948).

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3—4, 1956

O NOUĂ METODĂ DE LABORATOR PENTRU PREPARAREA BUTADIENEI PRIN CRACAREA CICLOHEXANULUI *)

DE

DAN C. COSTESCU şi GUSTAV SZÉKELY

I. INTRODUCERE

În momentul cînd s-a început studiul cauciucurilor sintetice nu dispuneam de o sursă de butadienă. Deoarece metodele normale de sinteză din alcool sau butan nu permiteau obţinerea în laborator a cantităţilor necesare de butadienă şi purificarea acesteia era greoaie, s-a cercetat literatura pentru a găsi o metodă specifică pentru laborator.

Cea mai interesantă a apărut metoda de cracare a ciclohexenei, menţionată pentru prima dată în brevetele Soc. B.A.S.F. din 1911 [1] şi 1912 [2]. Cracarea se face după metoda propusă de J. W. Williams şi C. D. Hurd, în 1940 [3], folosind un filament electric după principiul *lămpii de izopren*, folosită de C. Harries încă din 1911 [4]. În 1943 Sershberg şi Ruhoff [5] au propus adaptarea acestei metode pentru laborator. Pentru purificarea butadienei obţinută prin această metodă, în lucrarea *Monomers* [6], se recomandă transformarea în derivat tetrabromat şi dehalogenarea cu zinc în mediu de alcool [7], [8].

Iniţial, pentru prepararea ciclohexenei s-a hidrogenat fenolul în fază lichidă şi apoi s-a deshidratat ciclohexanolul cu acid sulfuric. Ulterior s-au adoptat procese continue în fază de vapori la presiune atmosferică, ceea ce ne-a permis să obţinem destul de uşor circa 20 kg ciclohexenă lunar.

Însă această metodă însumează şapte faze, dintre care ultimele două, prepararea derivatului bromurat şi descompunerea lui, sînt discontinue şi impun precauţii de manipulare.

Aceste neajunsuri ne-au determinat să căutăm alte metode de preparare şi purificare mai simple. Faptul că un colectiv al Academiei R.P.R. în colaborare cu sectorul aparataj de la ICECHIM pusese la punct un procedeu pentru separarea ciclohexanului din benzină, ne-a făcut să ne îndreptăm atenţia spre acest produs.

Cracarea ciclohexanului pentru obţinerea butadienei fusese brevetată de firma „Bayer" încă din 1912 [9], iar studii recente ale lui L. Berg [10]

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 21 mai 1956

arătau că butadiena se poate obține chiar din benzine bogate în ciclohexan și metilciclopentan cu un randament de 22%. Pentru laborator apărea interesantă cracarea ciclohexanului pur, unde Whitby [11] indică un randament de 60%. Cracarea în reactoare tubulare a fost brevetată în S.U.A., în diferite variante [12], [13], iar în 1941 Soc. „Koppers & Co" a operat un pilot cu o producție de circa 40 kg/zi, care trebuia să servească drept bază pentru o instalație de 20 000 t/an [14].

Deși lipsa de benzen din care se obținea ciclohexanul a determinat abandonarea acelui proiect [15], totuși au apărut și ulterior brevete pentru acest procedeu [16], [17], iar într-o lucrare recentă [18] este citat ca procedeu industrial pentru prepararea butadienei.

Conform indicațiilor din literatură, primele încercări de cracare s-au făcut în reactoare tubulare, dar pentru laborator operarea acestora este destul de complicată. Aceasta ne-a făcut să încercăm cracarea ciclohexanului pe filament electric, deși nu am găsit indicații de literatură în acest sens. Primele încercări le-am făcut într-un reactor de sticlă, după modelul descris recent de G. Auerbach [19] pentru producerea de cetenă, și apoi am folosit un reactor metalic construit de noi.

Pentru purificare, metoda de absorbție în ciclohexan folosită de Soc. „Koppers &Co" [20], nu apărea utilizabilă în laborator și am făcut cîteva încercări preliminarii de purificare prin adsorbție și absorbție.

În cele din urmă, am pus la punct un procedeu de adsorbție — desorbție în contra curent asemănător procesului continuu de hipersorbție folosit pentru separarea gazelor de cracare [21], [22], [23], [24]. Aceasta ne-a permis să obținem cu ușurință butadienă cu o puritate peste 98%.

În etapa respectivă nu am dispus decît de cantități mici de ciclohexan separat din benzină, astfel că materia primă ne-am procurat-o prin hidrogenarea benzenului, în aparatura și pe catalizatorul pus la punct pentru hidrogenarea fenolului. Din această cauză metoda folosită de noi a cuprins trei faze, iar în momentul în care se va obține ciclohexan din benzină în cantități mari, se va reduce la două faze.

II. HIDROGENAREA BENZENULUI

Hidrogenarea benzenului s-a realizat în fază de vapori, utilizînd un catalizator de nichel redus, care fusese folosit de colectivul nostru pentru hidrogenarea fenolului la ciclohexanol. Catalizatorul în formă redusă este constituit din trei moli de nichel metalic și un mol de oxid de aluminiu. Prepararea lui se face în modul următor :

— 100 părți de strunjitură de nichel se tratează cu cantitatea stoechiometrică de acid azotic concentrat. Se poate folosi o soluție de circa 30% de azotat de nichel, în cantitate corespunzătoare.

— În paralel, 30 de părți de aluminiu (sub formă de tablă tăiată în bucăți) se solvă într-o soluție de hidroxid de sodiu, în cantitate stoechiometrică.

Cele două soluții se amestecă sub agitare, obținîndu-se un precipitat verde. Aceasta se filtrează pe o pîlnie Büchner și se spală cu apă distilată. Turta umedă obținută se extrude cu ajutorul unei matrițe cu orificiul de $\varnothing = 3$ mm. Cilindrii obținuți se usucă la temperatura camerei, circa

24 de ore, apoi se taie în bucăți de circa 4 mm lungime. Uscarea se continuă în etuvă la 200°C, timp de 8 ore.

Hidrogenarea s-a executat într-un reactor tubular, confecționat din oțel O.L. și încălzit într-un cuptor electric. Capacitatea reactorului este de 400 cm^3. Condensarea produsului s-a făcut prin răcire cu apă, condensîndu-se astfel circa 90% din ciclohexanul produs. Dacă apare necesar, restul de 10% ciclohexan se poate prinde pe un tub umplut cu cărbune activ din care se degajă după saturare. Astfel se poate capta toată producția de ciclohexan, fără să fie nevoie de o răcire mai avansată (ghiață sau solă).

Condițiile optime de hidrogenare găsite de noi sînt următoarele:

— temperatura de hidrogenare, 180°C,
— temperatura de la evaporatorul de benzen, 30°C,
— debitul de hidrogen, 57 l/h,
— debitul de benzen, 25 g/h,
— raportul molar benzen : hidrogen = 1 : 6,9,
— timpul de contact 13 s.

De remarcat că lucrîndu-se cu un exces de hidrogen relativ mic s-a obținut totuși un produs complet hidrogenat, ceea ce a permis eliminarea aparaturii pentru recircularea hidrogenului.

Controlul reacției s-a făcut prin determinarea periodică a indicelui de refracție a produsului de hidrogenare, față de o diagramă făcută cu amestecuri sintetice. În mers normal nu s-a obținut niciodată un produs cu o puritate mai mică de 98%.

Instalația de laborator mai sus amintită, poate produce 215 g ciclohexan în 8 ore, ceea ce corespunde la o cantitate de 85 g butadienă (presupunînd un randament de 60% la cracare).

III. CRACAREA CICLOHEXANULUI

A. Cracarea termică

Conform datelor din literatură [12], [18] am încercat cracarea termică a ciclohexanului, atît singur cît și diluat cu vapori de apă.

Aparatura utilizată se compune din 4 părți distincte (fig. 1).

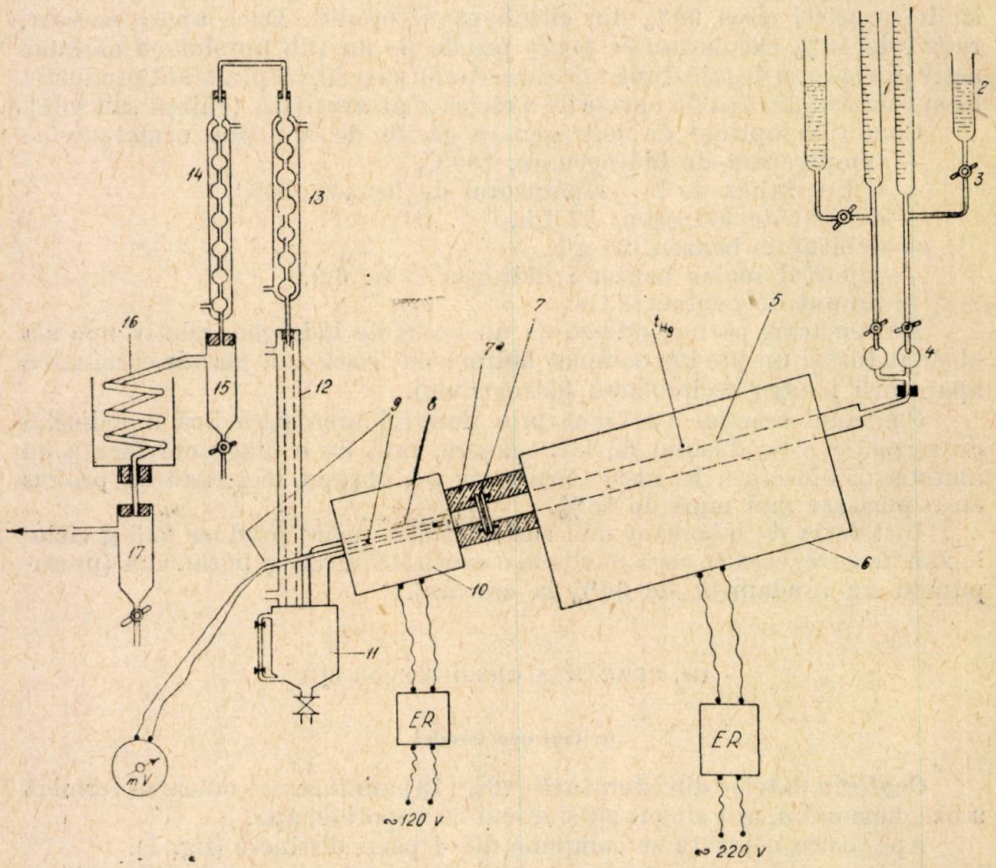
1. Partea de alimentare, formată din două biurete de alimentare, una pentru ciclohexan și cealaltă pentru apă.

2. Partea de evaporare și preîncălzire, formată dintr-un tub de oțel O.L. ∅ int. = 40 mm, lung de 800 mm, introdus într-un cuptor electric.

3. Partea de cracare este formată dintr-o țeavă de oțel O.L. cu ∅ int. = 18 mm, fiind încălzit pe o porțiune de 280 mm cu ajutorul unui cuptor electric de 0,5 kW. În tubul de reacție pătrunde o teacă de termocuplu cu ∅ ext. = 13 mm, pe toată lungimea lui. Spațiul de reacție reprezintă 35 cm^3. După ce reactorul descris s-a perforat datorită coroziunii, a fost schimbat cu altul, care nu mai avea teacă de termocuplu. Volumul acestuia reprezintă 50 cm^3. La acesta termocuplul intră direct în reactor, fără intermediul tecii.

4. Partea de separare a ciclohexanului nereacționat constă dintr-un sistem de refrigerente ascendente și descendente, prevăzute cu vase de separare. Gazele (butadiena, etilena și hidrogenul) sînt captate într-un gazometru.

Primele încercări de cracare s-au făcut cu ciclohexan simplu, fără vapori de apă. Înainte de alimentarea ciclohexanului, la temperatura de reacţie, s-a trecut gaz metan sau vapori de apă, pentru purjare. Apoi s-a trecut numai ciclohexan. În funcţie de timpul contact (0,9, 1, 6, 3 secunde)



LEGENDA

1. *Biuretă de 50 cm³*
2. *Rezervor de C_6H_{12}*
3. *Robinet*
4. *Pară de picurare*
5. *Tubul de preîncălzire*
6. *Cuptor electric de preîncălzire*
7. *Flanşă*

7a. *Izolaţie termică (şnur de azbest)*
8. *Tubul reactorului*
9. *Teacă de termocuplu*
10. *Cuptor electric al reactorului*
11. *Vas de separare a C_6H_{12} cu sticlă de nivel*
12. *Refrigerent ascendent metalic*

13. *Refrigerent ascendent cu bule*
14. *Refrigerent descendent cu bule*
15. *Vas de separare a C_6H_{12}*
16. *Spirală de cupru răcită cu ghiaţă*
17. *Vas de separare a C_6H_{12}*

Fig. 1. — Instalaţia metalică de cracare cu cuptor tubular.

şi de temperatura de reacţie (580, 600, 620, 650, 680°C) s-au obţinut gaze conţinînd între 2 şi 15% butadienă. În continuare s-a lucrat cu vapori de ciclohexan diluaţi cu vapori de apă. Atît ciclohexanul cît şi apa se alimenta sub formă lichidă. S-a lucrat cu timpi de contact de 0,1 — 0,4 sec. la temperaturi de 620, 650, 680, 700, 745°C şi la diverse raporturi molare de benzen-apă = 1 : 2 ; 1 :4 ; 1 :5 ; 1 :6 ; 1 :9 ; 1 :18 ; 1 :27. Din

cauza materialului necorespunzător din care era confecționat reactorul (oțel obișnuit O.L.), nu am obținut concentrații mai mari de 16,8% butadienă. Aceasta s-a atins în următoarele condiții: temperatura de reacție = 665°C, raport molar benzen : apă = 1 :6, timp de contact = 0,14 secunde.

Din cauza dificultăților de coroziune, nu am continuat reacțiile de cracare termică, ci am încercat cracarea pe filament electric. Precum am mai amintit, cracarea pe filament electric am mai utilizat-o la producerea butadienei din ciclohexenă, dar folosirea ei pentru ciclohexan nu am întîlnit-o în literatură.

B. Cracarea pe filament electric

Încercările de cracare pe filament electric s-au executat în aparatură de sticlă [19]. Pentru producție s-a construit mai tîrziu un aparat metalic, cu un filament mai puternic.

Aparatura de sticlă se compune din următoarele părți (fig. nr. 2):

1) balonul de evaporare încălzit cu o plită electrică;

2) tubul de cracare cu filamentul de sîrmă de Cr-Ni, sub formă de spirală (∅ sîrmă = 0,6 mm; ∅ spiralei = 4 mm), ce este susținut de un tub central prin intermediul unor cîrlige de sticlă. Tubul central este închis în partea de jos și are sudați doi electrozi pentru legăturile electrice.

3. Partea de separare a gazelor de cracare de ciclohexanul nereacționat, este formată din două refrigerente cu apă, unul cu ghiață, două vase de separare și un tub de recirculare al ciclohexanului condensat.

În această aparatură s-au executat determinări în diverse condiții. S-a lucrat cu diverse amperaje la plită: 2, 2,5 și 3,0 A.

Cantitatea de ciclohexan corespunzătoare la amperajele de mai sus este prezentată în tabloul nr. 1.

Tabloul nr. 1

Amperajul plitei	Cantitatea de C_6H_{12} evaporată g/h
2,0	182
2,5	400
3,0	573

Astfel prin variația amperajului plitei se poate regla debitul de vapori de ciclohexan ce trece peste filamentul electric.

Pe de altă parte, prin variația amperajului filamentului de cracare s-a variat temperatura de reacție. S-a lucrat la 4, 4,5, 5, 5,3 și 5,6 A.

La debite mai mici de ciclohexan (182 g/h) în cazul măririi amperajului de filament de la 4,5 la 5,0 A, procentul de butadienă scade de la 16,1 la 14,2% (fig. 3).

La un amperaj de filament de 4,5 procentul de butadienă este neînsemnat de mic. Aceasta înseamnă că pentru acest debit avem o temperatură de reacție optimă, corespunzătoare la 4,5 A. La o temperatură mai mare, se favorizează cracarea ciclohexanului în etilenă. Aceste temperaturi

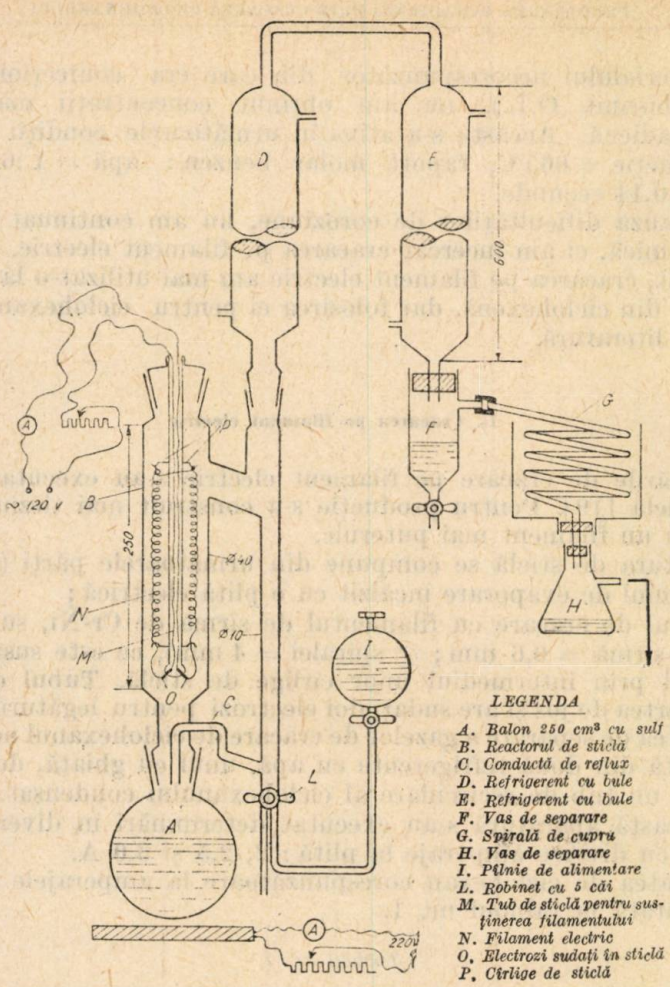


Fig. 2. — Instalația de sticlă pentru cracare pe filament electric.

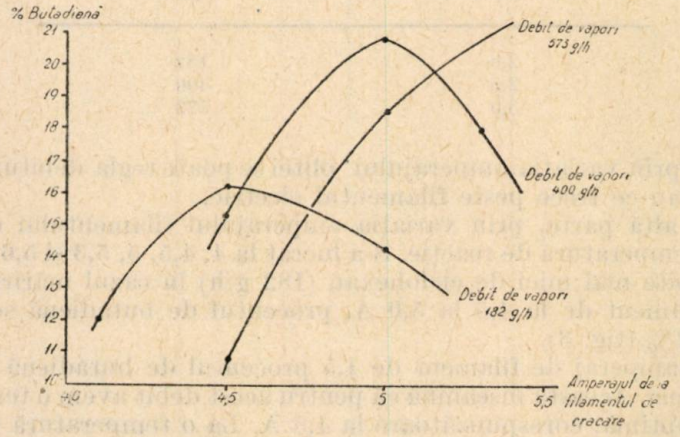


Fig. 3. — Procentul de butadienă din gazul de cracare în funcție de debitul de vapori de C_6H_{12}

optime de reacție, corespunzătoare la un anumit amperaj, pot fi observate și în cazurile următoare. Astfel, lucrîndu-se cu un debit de vapori de ciclohexan de 400 g/h, la o temperatură corespunzătoare de 5A, avem 18,5% butadienă, la un amperaj mai mic sau mai mare, procentul de butadienă descrește. La un debit de 573 g vapori de ciclohexan, procentul de butadienă crește la creșterea amperajului la filament, dar în aparatura de sticlă folosită nu am putut ajunge la amperajul optim, din cauza înecărilor.

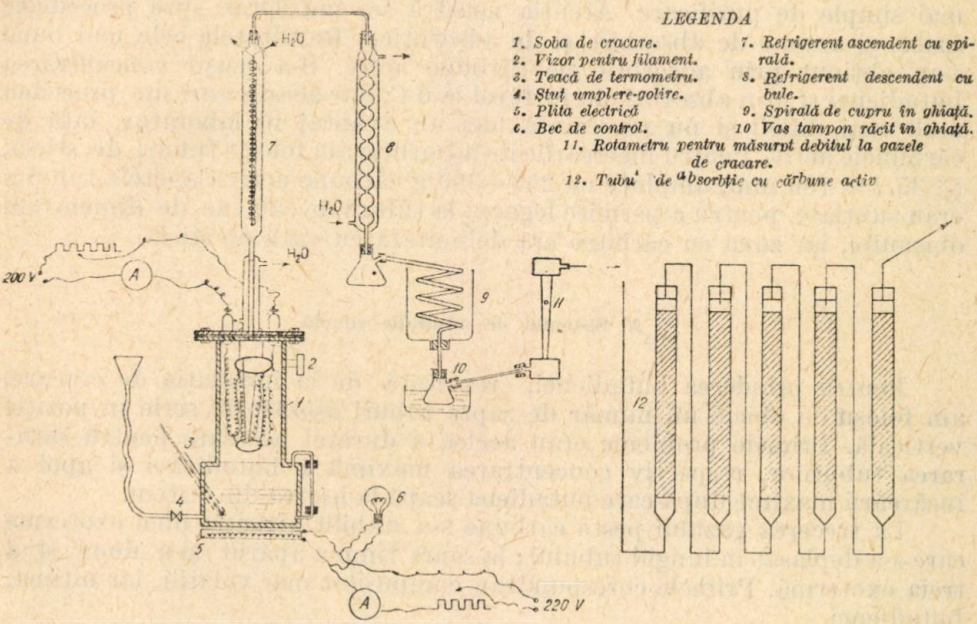


Fig. 4. — Instalația metalică de cracare a ciclohexanului cu filament e ectric.

În condițiile optime s-au executat reacții de cracare de durată, pentru a putea determina randamentul reacției. Astfel, la un debit de 400 g/h vapori de ciclohexan, la o temperatură corespunzătoare la 5A de la filament, s-a obținut un debit de 45 l/h gaz de cracare cu un conținut de 20,8% butadienă. La aceste condiții corespunde un randament de 44,6% și o conversie de 16,5%.

Acest rezultat s-a putut reproduce și atunci cînd s-a lucrat cu o probă de ciclohexan separat din benzină, cu următoarele proprietăți: puritate 96,5%, punct de anilină 32,5°C și indice de refracție la 20°C, 1,4235.

Pentru producție s-a construit o aparatură de cracare metalică, confecționată din oțel O.L. (fig. 4). Filamentul electric este alimentat prin două bujii-auto fixate pe capac. În cazul cracării pe filament electric, oțelul O.L. din care este construit aparatul nu a avut nici o acțiune catalitică nefavorabilă. Dimpotrivă, s-au obținut gaze de cracare mai bogate în butadienă (27%) și randamente mai ridicate (60%). Aparatura aceasta a funcționat pentru producție mai multe zile în continuare, fără oprire. Acest lucru ne-a permis să avem un regim mai constant decît în aparatura de sticlă și să putem determina randamentul mult mai exact.

Cu gazele obţinute în această aparatură s-au făcut încercările de concentrare ce sînt expuse în partea a IV-a.

IV. CONCENTRAREA BUTADIENEI PRIN ADSORBŢIE PE CĂRBUNE ACTIV

În introducere am accentuat dificultăţile ce se leagă de metoda purificării butadienei cu brom. Aceasta ne-a determinat să căutăm alte metode mai simple de purificare. Atenţia noastră s-a îndreptat spre procedeele fizice, şi anume de absorbţie şi de adsorbţie. Rezultatele cele mai bune s-au obţinut prin adsorbţie pe cărbune activ. S-a reuşit concentrarea butadienei şi prin absorbţie în furfurol la 0°C, dar acesta este un procedeu mult mai dificil şi nu reprezintă nici un avantaj în laborator, faţă de cărbunele activ. Pentru încercările de adsorbţie am folosit tuburi de sticlă, $\varnothing$ 35, l = 700 mm, umplute cu 250—300 g cărbune activ.Capetele tubului erau subţiate, pentru a permite legarea la tuburi de cauciuc de dimensiuni obişnuite, iar zona cu cărbune era delimitată cu vată de sticlă.

A. Sistemul de adsorbţie simplă

Pentru prinderea butadienei, rezultată de la instalaţia de cracare, am folosit de obicei un număr de şapte tuburi aşezate în serie în poziţie verticală. Primele probleme erau acelea a duratei necesare pentru saturarea tuburilor, respectiv concentrarea maximă a butadienei şi apoi a încărcării maxime după care butadiena scapă la ieşirea din sistem.

La trecerea gazului peste cărbune s-a stabilit apariţia unei exoterme care s-a deplasat în lungul tubului; la scurt timp a apărut şi a doua şi a treia exotermă. Primele corespundeau compuşilor mai volatili, iar ultima, butadienei.

Degazînd fiecare tub în parte într-un gazometru, s-a găsit pentru ultimile patru tuburi, următorul conţinut în butadienă (tabloul nr. 2).

Tabloul nr. 2

Tubul nr	4	5	6	7
Concentraţia butadienei	68,5	27,8	3,33	1,8
Concentraţia etilenei	—	—	81	89

Rezultă că dacă nu se împinge saturarea sistemului decît pînă la trecerea exotermei de butadienă dincolo de tubul al treilea de la sfîrşit, nu se pierde practic deloc butadienă. Prin degazarea integrală a tubului nr. 1 din sistemul menţionat, s-au obţinut 25 litri (aproximativ 50 g butadienă) cu o concentraţie de butadienă de 79,6%. Prin urmare, folosind un sistem de şase tuburi în circuit şi un al şaptelea la degazare, care se introduce la sfîrşit, atunci cînd exoterma corespunzînd budatienei ajunge la tubul al patrulea, se poate scoate primul tub cu butadienă de această concentraţie. Cantitatea de gaze adsorbită corespunde la 25 g gaze/100 g cărbune.

Prin sistemul de adsorbție simplă se înțelege acela în care gazele din primul tub din circuitul I sînt degazate într-un gazometru, din care se trec pe un al doilea circuit pe care se realizează o concentrare mai avansată. Tot așa se degazează și aici primul tub, prinzînd gazul într-un gazometru, de unde se trece pe un al treilea circuit și așa mai departe, pînă cînd gazul degajat are concentrația dorită.

Astfel pentru gazele de cracare a ciclohexanului s-au obținut următoarele concentrații în primele circuite (tabloul nr. 3).

Tabloul nr. 3

	Butadienă în gaz %	Concentrare la o treaptă %
Inițial	26,5	—
Circuitul I	79,5	53
„ II	87,5	8
„ III	90,5	3
„ IV	92	1,5
„ V	93	1

Se vede că nu este avantajos de a se efectua concentrarea în modul acesta, decît cel mult pînă la 90%. Din această cauză am considerat că trebuie folosite alte metode după prima treaptă de concentrare.

B. Desorbție fracționată

Se poate realiza fie prin micșorarea presiunii fazei gazoase, fie prin ridicarea temperaturii cărbunelui. Din izotermele și izobarele alcătuite pe baza datelor de literatură, care nu se potriveau la cărbunele nostru dar au fost utilizate pentru indicații calitative asupra efectelor ce se pot obține, am constatat că scăderea presiunii nu produce un efect apreciabil de concentrare, fapt pe care l-am verificat practic.

Prin ridicarea temperaturii porțiunea inițială a curbelor reprezentînd izotermele se aplatizează pentru gazele mai volatile în măsură mai mare decît pentru butadienă.

Practic, prinzînd separat porțiuni din gaz pe măsură ce se degaja prin încălzire, am constatat că primele porțiuni sînt foarte diluate. Arătăm în tabloul nr. 4 concentrațiile medii obținute pe tuburi degazate fracționat.

Tabloul nr. 4

Fracțiunea %	Concentrația gazului în butadienă %
0 — 10	25
10 — 20	32
20 — 25	60
60 — 100	89
90 — 100	92

Aceste date ne-au arătat că nu se poate obține butadienă peste 90% decît în condiții neinteresante. Astfel, pentru a obține butadienă de 89% este necesar să se degazeze sub formă diluată 60% din butadienă adsorbită, iar pentru a obține o concentrație de 92% trebuie să se elimine 90% din gazul adsorbit.

În același timp este de remarcat că afară de primii 8—10%, restul fracțiunilor sînt mai concentrate decît gazul de cracare brut și deci trecerea lor peste restul tuburilor de cărbune va produce concentrarea butadienei adsorbite.

Acest fenomen ne-a dus la combinarea celor două procese de mai sus, într-un proces similar hipersorbției.

C. Hipersorbția

Principiul hipersorbției este circulația în contracurent a gazelor de concentrat și a cărbunelui folosit ca adsorbant [21], [24]. În zona de stripare, adică în partea superioară a coloanei (de la punctul de alimentare în sus), gazele mai grele dizlocă pe cele mai ușoare, care ies în partea superioară a coloanei. În zona de concentrare a coloanei de hipersorbție, adică în partea inferioară a coloanei (dela punctul de alimentare în jos), gazul se concentrează prin desorbția treptată a fracțiunilor cu punct de fierbere scăzut și adsorbția produșilor mai grei. Astfel la baza coloanei, prin intermediul temperaturii mai ridicate, gazele ce sînt desorbite reprezintă produsul mai greu pur, cu punct de fierbere superior celor care au fost eliminate în partea superioară a coloanei. O parte din gazul greu este scos ca produs (în cazul nostru butadiena), iar o parte recirculă ca reflux. Talerele teoretice se calculează ca la coloanele de rectificare.

În laborator noi am realizat un procedeu similar hipersorbției. Deși am lucrat cu pat de adsorbție fix, tuburile de adsorbție erau deplasate manual la anumite intervale, împreună cu gazele adsorbite și am obținut astfel un efect similar ca în cazul hipersorbției cu pat mobil.

În practică, tuburile de la soba de cracare, constituind circuitul I, se scot treptat pe măsura saturării, pînă cînd se strînge un număr suficient de tuburi saturate pentru a forma circuitul II (4 tuburi). Din acest moment tuburile care se saturează în circuitul I se degazează pe circuitul II, cele saturate în circuitul II peste circuitul III, format din tuburi asemănătoare, și așa mai departe. Tuburile saturate din circuitul IV sînt degazate în gazometru sau condensate direct. Concentrația butadienei obținute în modul acesta este de 98—99%, iar dacă se lucrează numai cu trei circuite se obține butadienă de 95—96%. Tuburile degazate din fiecare circuit se introduc la sfîrșitul circuitului respectiv și se saturează treptat pînă ajung în prima poziție.

Partea de stripare a coloanei de hipersorbție propriu-zisă corespunde la circuitul I, pe cînd partea de concentrare corespunde la circuitele următoare.

În concluzie, prin procedeul elaborat de noi, care este similar hipersorbției, se poate concentra ușor butadiena obținută prin cracarea ciclohexanului.

V. ÎNCERCĂRI DE POLIMERIZARE

Butadiena purificată în ultima treaptă s-a condensat cu amestec de ghiață — sare, într-un vas de condensare cu spirală, pentru produse volatile. După determinarea concentrației de butadienă în aparatul de analiză cu anhidridă maleică, s-au executat probe de copolimerizare, pentru a determina efectul impurităților. S-a lucrat cu butadienă de la 88% pînă la 97% concentrație. Polimerizarea s-a executat la 50°C în emulsie, după sistemul Buna S-3 german, reușind să se obțină un cauciuc sintetic care prelucrat și vulcanizat, corespundea produsului străin. Rețeta folosită este următoarea :

70 g butadienă
30 g stiren
106 g apă
3 g nekal
0,5 g acid stearic
0,4 g NaOH
0,4 g persulfat de potasiu (inițiator de polimerizare)
0,09 g diproxid (modificator de polimerizare)

În ceea ce privește tehnica de polimerizare, s-a lucrat în fiole de sticlă Jena, $\varnothing$ int. = 17, l = 300, trase într-un capăt. Șarjele mai mari, de 100 g monomeri, s-au executat în sticle de șampanie, de 750 cm^3 capacitate.

Încărcarea fiolelor sau sticlelor s-a început la temperatura camerei prin adăugarea soluțiilor apoase de ingredient, apoi a stirenului. Fiolele sau sticlele s-au cîntărit pînă la precizia de 0,1 g, s-au răcit cu amestec de ghiață — sare (—18 la —20°C) și s-a turnat butadienă condensată. S-a introdus un mic exces (circa 1—2 g), prin evaporarea căruia s-a eliminat aerul rezidual. În momentul în care s-a evaporat excesul, fiolele se închideau la flacără de oxigen, iar la sticle se punea dopul de cauciuc, tip penicilină, rezistent la solvenți organici. Dopul era presat cu ajutorul unui sistem de strîngere.

Fiolele, respectiv sticlele, astfel umplute, s-au ținut o oră la temperatura camerei, apoi s-au introdus în agitatorul de polimerizare, unde se învîrteau peste cap (la temperatura de 50°C menținută de un termostat).

Presiunea în sistemul de polimerizare era de 5 at la început, apoi scădea pe măsura consumării butadienei.

Sistemul de închidere cu dop de cauciuc a sticlelor de polimerizare a permis introducerea modificatorului în soluție de stiren, în timpul reacției. Pentru aceasta s-a utilizat o siringă hipodermică de 2 cm^3, introducîndu-se 0,1—1 cm^3 modificator, după nevoie. Totodată, cu ajutorul siringii hipodermice, s-au scos probe de emulsie în timpul polimerizării, din care s-a putut determina prin măsurarea conținutului de substanțe solide, conversia la care a ajuns sistemul. Fiecare probă de polimerizare a fost astfel urmărită, rezultatele s-au marcat pe diagramele de conversie. În diagrama din figura 5 se pot vedea șase curbe de conversie, corectate pentru întîrzierea cauzată de perioada de inducție.

Dăm în tabloul nr. 5 concentrația butadienei folosită pentru cele șase șarje de polimerizare, executate în sistemul descris mai sus.

Din diagrama figurii 5 reiese clar că impuritățile butadienei obținute din ciclohexan nu deranjază polimerizarea. De exemplu, șarja de

polimerizare nr. 27, care are cel mai mare timp de inducţie, s-a realizat cu o butadienă destul de pură. Motivul acestei întîrzieri este faptul că

Tabelul nr. 5

Şarja nr.	Puritatea butadienei folosite *)
21	97
22	88
25	95
27	93,3
28	88
30	88

*) Cantitatea de butadienă luată pentru polimerizare s-a corectat de fiecare dată ţinînd seama de concentraţia ei.

la această polimerizare s-a utilizat un dop de cauciuc nou, neextras, care conţinînd inhibitor, a frînat începerea polimerizării.

Pe de altă parte, în şarjele nr. 22 şi 30 de exemplu, executate ambele cu butadienă relativ puţin concentrată, timpul de inducţie este foarte

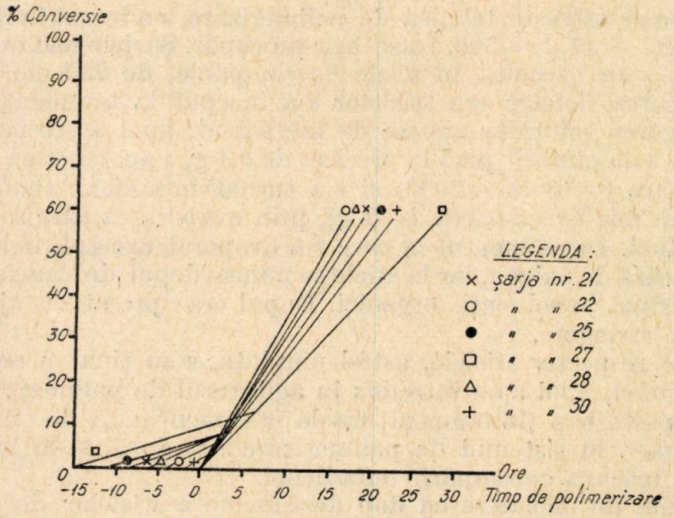


Fig. 5. — Curbe de conversie corectate pentru perioada de inducţie.

mic. Trebuie precizat că în aceste cazuri s-a utilizat dop de cauciuc folosit de mai multe ori, din care inhibitorul conţinut a fost extras în timpul reacţiilor de polimerizare anterioare.

Reacţiile de polimerizare s-au condus pînă la o conversie de 60%, indicată în literatură. Timpul necesar pentru atingerea acestei conversii, corespunde cu cele indicate în literatură, afară de cîteva cazuri (de ex. şarja nr. 27), unde inhibitorul din dop a întîrziat atingerea conversiei în timpul normal de 20—24 de ore.

Aceste şarje de polimerizare ne-au permis să stabilim că o concentraţie de 88% este suficientă, la butadienă obţinută prin metoda noastră, pentru a fi folosită la polimerizare.

CONCLUZII

1. S-a pus la punct aparatura și s-au stabilit condițiile de cracare pe filament electric a ciclohexanului pentru obținerea butadienei.

2. S-a pus la punct un procedeu de purificare a butadienei obținută prin cracarea ciclohexanului, folosind adsorbția pe cărbune activ și desorbția în contracurent cu circulația tuburilor de cărbune, asemănător procesului de hipersorbție. În paralel s-a obținut etilenă de concentrație ridicată, care se poate folosi eventual pentru sinteza stirenului.

3. Combinînd procedeele de mai sus cu operația de hidrogenare a benzenului la ciclohexan în fază de vapori, am realizat o metodă de sinteză a butadienei în laborator, cuprinzînd numai trei faze, față de metoda obișnuită folosind ciclohexena, care presupune șapte faze de lucru.

4. Am reușit să dovedim că în afară de o ușoară creștere a presiunii, impuritățile conținute în butadiena preparată după procedeul nostru, nu cauzează nici o întîrziere (efect de inhibare) în sistemul de copolimerizare buna S-3, chiar atunci cînd se lucrează cu butadienă de 88% puritate, obținută din două circuite de absorbție.

5. În procedeul nostru se elimină consumul ridicat de brom, folosit pentru purificare, precum și necesitatea răcirii avansate cu zăpadă carbonică.

Institutul de cercetări chimice,
București

Prezentată la redacție la 21 mai 1956

НОВЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ МЕТОД ПРИГОТОВЛЕНИЯ БУТАДИЕНА ПУТЕМ КРЕКИРОВАНИЯ ЦИКЛОГЕКСАНА

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

С целью упрощения обычного метода производства бутадиена в лаборатории путем крекирования циклогексана, было исследовано крекирование циклогексана, получаемого более легким путем. Так как промышленный метод крекирования циклогексана в трубчатых реакторах является слишком сложным для лабораторного производства, была налажена аппаратура и определены параметры для непрерывного крекирования на нити накала.

В то же время, для устранения неудобств метода очистки бромированным производным, был освоен метод, использующий адсорбцию на активном угле. Этот метод, при котором используются 2 или 3 цикла с угольными трубками, движущимися навстречу потоку газов, воспроизводит в принципе промышленный метод гиперсорбции и позволяет выделение в большой концентрации бутадиена и этилена, содержащихся в крекинговых газах циклогексана.

Путем проведения ряда опытов по полимеризации было доказано, что чистота бутадиена в 88% является достаточной для достижения нормальной полимеризации в системе „буна S-3“, что позволяет ограничиться лишь двумя адсорбционными циклами.

Метод, в котором исходным продуктом является бензол и заключающий 3 фазы, представляет особый интерес в РНР, где освоено выделение циклогексана из бензина, что позволит свести лабораторные операции к двум фазам: крекированию и адсорбции.

ОБЬЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Металлическая крекинговая установка с трубчатой печью.
Рис. 2. — Стеклянная установка для крекирования на нити накаливания.
Рис. 3. — Процентное содержание бутадиена, в крекинговом газе, в зависимости от выхода паров C_6H_{12}.
Рис. 4. — Металлическая установка для крекирования циклогексана с нитью накаливания.
Рис. 5. — Корректированные конверсионные кривые для индукционного периода.

UNE NOUVELLE MÉTHODE DE LABORATOIRE POUR LA PRÉPARATION DU BUTADIÈNE PAR CRACKING DU CYCLOHEXANE

(RÉSUMÉ)

Afin de simplifier la méthode usuelle de production du butadiène au laboratoire par cracking du cyclohexène, les auteurs ont étudié le cracking du cyclohexane, — produit que l'on obtient plus facilement. Étant donné que la méthode industrielle de cracking du cyclohexane, dans des appareils de réaction tubulaire, est trop compliquée pour une production de laboratoire, ils ont mis au point l'appareillage et ils ont déterminé les paramètres pour le cracking continu sur un filament électrique.

En même temps, pour éliminer les inconvénients de la méthode de purification par le dérivé bromé, ils ont mis au point une méthode qui utilise l'adsorption par le charbon actif. Cette méthode, qui emploie 2 ou 3 circuits à tubes garnis de charbon qui se déplacent en sens inverse des gaz, reproduit le procédé industriel d'hypersorption et permet la séparation à forte concentration du butadiène et de l'éthylène contenus dans les gaz de cracking du cyclohexane.

Une série d'essais de polymérisation ont prouvé qu'il suffisait d'une pureté de 88% du butadiène pour que l'on obtienne la polymérisation normale dans le système buna S-3, ce qui permet de n'utiliser que 2 circuits d'adsorption.

Le procédé, qui part du benzène et comprend 3 phases, présente un intérêt particulier pour la Roumanie, où a été mise au point la séparation du cyclohexane de l'essence de pétrole — produit que d'aucuns appellent aussi benzine — ce qui permettra de réduire les opérations de laboratoire à deux phases : cracking et adsorption.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Installation métallique de cracking à four tubulaire.
Fig. 2. — Installation en verre pour le cracking sur filament électrique.
Fig. 3. — Le pourcent de butadiène du gaz de cracking en fonction du débit de vapeurs de C_6H_{12}.
Fig. 4. — Installation métallique de cracking du cyclohexane à filament électrique.
Fig. 5. — Courbes de conversion corrigées pour la période d'induction.

BIBLIOGRAFIE

1. B.A.S.F. Pat. englez, 27. 387, 6 decembrie 1911.
2. B.A.S.F. Pat. germ., 252. 499, 23 octombrie 1912; C. **II**, 1708 (1912).
3. J. W. WILIAMS a. C. D. HURD, J. Org. Chem, **5**, 122—125 (1940).
4. C. HARRIES, K. GOTTIB, Ann., 383, 228 (1911).
5. E. B. SERSHBERG, J. R. RUHOFF, Coll. Org. Synthesis, **II**, 102-5, Wiley & Sons.
6. H. MARK, *Monomers Interscience*. New-York, 1948.
7. G. B. KISTIAKOVSKI, J. R. RUHOFF, H. A. SMITH, W. E. VANGHAN, Journ. Amer. Chem. Soc., **58**, 146—153 (1936).
8. J. THIELE, Ann., **308**, 339 (1899).
9. F. BAYER & Co., Pat. germ., 248. 738., 29 iunie 1912.
10. L. BERG, G. L. SUMNER, C. W. MONTGOMERY, J. COULLE, Ind. & Eng. Chem., **37**, 352—5 (1945).
11. G. S. WHITBY, M. CATZ, Ind. & Eng. Chem., **25**, 1338—48 (1933).
12. * * * Pat. S.U.A., 1.732. 381 (1929).
13. * * * Pat. S.U.A., 1.900. 739 (1933).
14. F. A. HOWARD, *Buna Rubber-The Birth of an Industry*. Van Nostrand, 1947, 163—4.
15. * * * Rubber Reserve Co., *Rept. on the Rubber Programme 1940—45*, 24 februarie 1945, 22 (citat în [18]).
16. * * * Pat. S.U.A., 2.418.879 (1947).
17. W. O. KEELING, Pat. engl., 595. 879, 13 ianuarie 1948.
18. WHITBY G. S., *Synthetic Rubbers*. Wiley & Sons, New-York, 1954, 126—28.
19. G. AUERBACH, Chem. Ing. Techn., 210 (1952).
20. H. A. GOLMAN, (Koppres Co) Pat. am, 2.575. 341, 20 noiembrie 1951.
21. C. BERG, Trans. Am. Inst. Chem. Engngrs. **42**, 665 (1946).
22. W. F. BLAND, Petroleum Processing, **3**, 635 (1948).
23. H. KEHDE, Chem. Eng. Progress, **44**, 575, (1948).
24. * * * Ind. & Eng. Chem. **42**, 1279—1346 (1950).

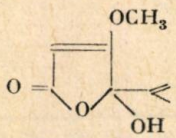
STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE
Tomul IV, nr. 3–4, 1956

O METODĂ DE DOZARE COLORIMETRICĂ A ACIDULUI PENICILIC *)

DE

M. ŞTERNBERG

Acidul penicilic este o substanţă antibiotică cu structura unei oxilactone (I), produsă de diverse tulpini de penicilii şi aspergilii [7]



Din punct de vedere analitic acidul acesta a fost relativ puţin studiat deşi, de multe ori, se punea fie problema urmăririi sale printr-o metodă fizico-chimică obiectivă [2], fie problema identificării sale în filtrate neidentificate produse de fungi [3] printr-o reacţie sensibilă şi specifică.

În afara metodelor microbiologice, comune tuturor antibioticelor, nu a apărut pînă în prezent în literatură o metodă de dozare. În ceea ce priveşte identificarea acidului penicilic, se arată [1] că dă o coloraţie roşie cu amoniacul concentrat, vizibilă de la o concentraţie de 0,05% şi o coloraţie purpurie cu nitroprusiat în soluţie piridinică alcalină. Aceste reacţii nu au fost utilizate în nici una din lucrările consacrate acidului penicilic, probabil din cauza sensibilităţii lor reduse (reacţia cu amoniac) sau a lipsei de specificitate (reacţia cu nitroprusiat).

În cele ce urmează se descrie o reacţie nouă de culoare a acidului penicilic. Sensibilitatea sa (0,008%), cît şi specificitatea au fost găsite satisfăcătoare pentru a permite identificarea şi dozarea acidului penicilic în filtrate native, precum şi urmărirea sa în studii chimice şi biochimice.

Principiul reacţiei. Acidul penicilic dă o coloraţie roşie cu hidroxilamina în soluţie puternic alcalină.

Reactivi. I. Clorhidrat de hidroxilamină, soluţie apoasă 4%. II. Hidroxid de potasiu 40%.

Modul de lucru. La o soluţie conţinînd acid penicilic se adaugă în ordinea indicată 0,05 ml soluţie I şi 0,3 ml soluţie II pentru fiecare ml

*) Lucrare prezentată în şedinţa de comunicări a Secţiei de ştiinţe chimice din 28 octombrie 1955.

de soluție analizată. Apare o culoare galbenă care în puțin timp (6 minute la temperatura camerei) trece în roșu.

Reacția se efectuează pe soluții apoasă sau etanolică de acid penicilic. Dacă antibioticul se găsește într-un solvent nemiscibil cu apa, atunci se adaugă cîțiva ml de apă și se efectuiază obișnuit reacția : acidul penicilic trece cantitativ în stratul de apă sub formă de sare de potasiu, unde dă reacția de culoare.

Dozare. Absorbția maximă în vizibil a culorii este la 530 mμ. Măsurători făcute cu un fotometru vizual arată că legea lui Beer se respectă

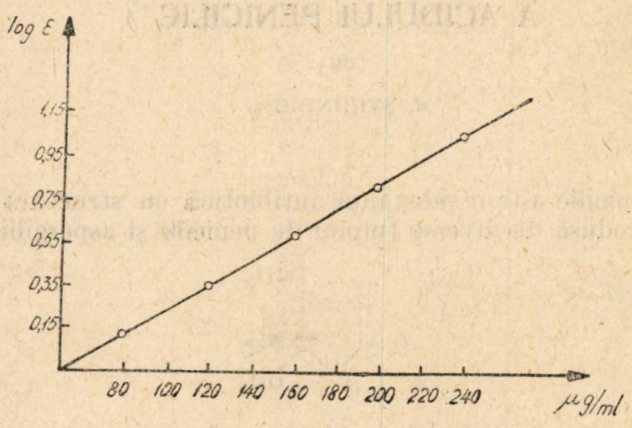


Fig. 1

într-un interval de 80—1000 μg/ml. În acest domeniu se poate doza antibioticul măsurînd intensitatea de culoare și raportînd-o la un grafic etalonat prealabil cu concentrații cunoscute (fig. 1). Se poate folosi și metoda colorimetrică, în care caz comparația se face față de o soluție etalon de acid penicilic pur.

Valoarea extincției se menține nemodificată timp de 30 minute la temperatura camerei.

Sensibilitatea. Reacția de culoare este dată de acidul penicilic începînd de la o concentrație de 80 μg/ml.

Influența luminii, temperaturii și ionilor anorganici. Lumina nu influențează sensibilitatea reacției sau stabilitatea culorii.

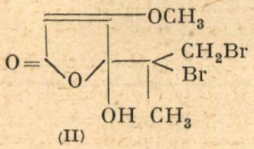
Tabloul nr. 1

Temperatura°C	0	17	25	50	100
Timpul min.	60	15	8	2	—

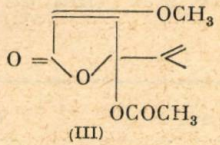
Temperatura prezintă o influență accentuată asupra vitezei de formare a culorii și timpului în care se menține constantă intensitatea maximă a culorii. Tabloul nr. 1 dă viteza de formare a culorii cu extincție maximă la diferite temperaturi pentru o concentrație de 150 μg/ml.

Ionii anorganici comuni, obişnuit prezenţi în mediile biologice (F,Cl, Br, I, SO_4, PO_4, NO_2, NH_4, cationii alcalini şi alcalino-pămîntoşi) nu prezintă vreo influenţă.

Specificitate. Dintre derivaţii acidului penicilic am încercat reacţia de culoare pe doi dintre ei: acidul dibrompenicilic (II) şi acidul acetilpenicilic (III)



(II)



(III)

Aceşti derivaţi au fost preparaţi după J. H. Birckinshaw [1] şi au prezentat caracteristicele din literatură.

Dintre ei, acidul acetilpenicilic (III) dă reacţia de culoare în condiţii identice cu acidul penicilic. Sensibilitatea reacţiei este aceiaşi dacă se raportează la valori molare. Acest fapt este de aşteptat dat fiind că în condiţiile alcaline puternice ale mediului are loc probabil saponificarea esterului cu formare de acid penicilic liber.

Acidul dibrompenicilic (II) nu dă reacţia de culoare. Ambii derivaţi au fost în prealabil solviţi în alcool etilic, apoi s-a diluat cu apă pînă la o concentraţie de 2% a alcoolului.

Din motive practice, reacţia a mai fost probată de cîţiva antibiotici comuni, deşi nu au asemănări structurale cu acidul penicilic. S-au încercat penicilina (negativ), streptomicina (negativ), aureomicina (negativ), cloromicetina (galben-verzui), bacitracina (galben).

Produşii de degradare acidă şi alcalină ai acidului penicilic nu dau reacţia de culoare.

Degradarea alcalină s-a făcut pe o soluţie de 0,1 g acid penicilic în 100 ml NaOH N/1 la temperatura camerei. Din minut în minut s-au prelevat probe care, după neutralizare cu H_2SO_4 4N, s-au dozat prin metoda microbiologică a cilindrilor pe agar şi prin metoda fotometrică propusă. Dozarea microbiologică (efectuată de către secţia microbiologică a Institutului de cercetări antibiotice) s-a făcut prin măsurarea zonelor de inhibiţie folosind ca microorganism test B. subtilis.

Rezultatele (tabloul nr. 2) indică paralelism între dozările microbiologice şi fotometrice. Acelaşi paralelism a fost constatat şi la rezultatele degradării acide efectuate pe o soluţie de 0,15 g acid penicilic în 100 ml. acid sulfuric 4N la 100 °C.

Tabloul nr. 2

Timpul în min.	0	1	4	5	7	10
Dozare microbiologică (mm zonă)	35	34	30	27	22	11
Dozare chimică μg/ml	1 000	700	281	215	131	sub dozabil

Rezultatele dozărilor comparative de mai sus arată că reacţia de culoare nu este dată de produşii de degradare acidă sau alcalină ai acidului penicilic şi se apropie de condiţia dozării specifice a principiului anti-

biotic. Această condiție de specificitate este confirmată și de urmărirea paralelă fotochimică și microbiologică a inactivării acidului penicilic de către plasma sanguină.

Inactivarea s-a produs pe soluții de acid penicilic în tampon fosfat M/15 pH=7,4 la care s-au adăugat volume crescînde de plasmă umană normală, fiecare probă conținînd 500 μg/ml de acid penicilic s-a menținut înainte de dozare la 37° timp de 24 ore (tabloul nr. 3).

Tabloul nr. 3

ml plasmă	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4*)
Dozare microbiologică	28,5	26,5	24	22,5	22	15,5
Dozare chimică	500	450	300	230	160	0

*) = martor.

Tot în scopul probării specificității reacției de culoare găsite am reluat experiențele lui A. E. Oxford [5], privind reacțiile acidului penicilic

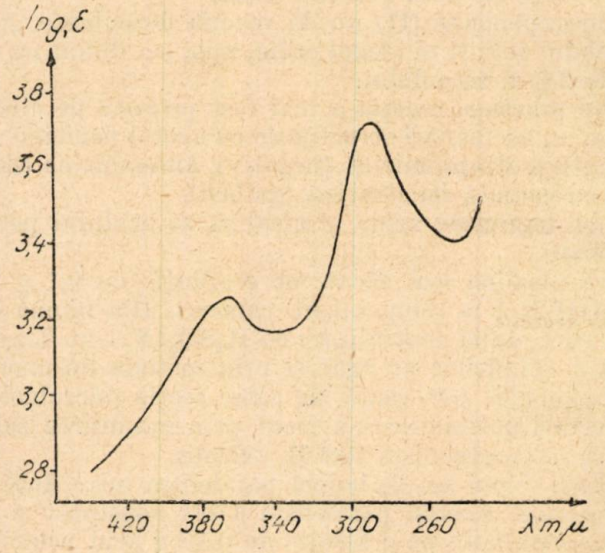


Fig. 2

cu unii constituenți ai mediilor biologice. Rezultatele dozărilor fotochimice prezintă paralelism cu rezultatele microbiologice.

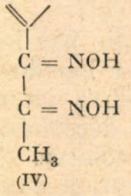
Identificarea și dozarea acidului penicilic în filtrate native. Filtratele native cu un conținut mai mare de 100 μg/ml de acid penicilic permit efectuarea directă, fără extracție prealabilă și concentrare, a reacției de culoare și dozarea antibioticului. Datele din literatură [1], [6] indică un conținut de acid penicilic în filtrate cuprins între 500 și 2600 μg/ml. Încercările noastre s-au făcut pe un filtrat de *Penicillium Chrysogenum* G 400 [4] cu un conținut de 300—600 μg/ml de acid penicilic.

Cu toată complexitatea compoziției unor asemenea lichide culturale, metoda de dozare poate fi aplicată în mod simplu. Înactivînd filtratele fie

prin alcalinizare fie prin incubare cu plasmă sau glicocol, nu se mai obține reacția de culoare, ea dovedindu-se și în acest caz specifică principiului antibiotic.

Unele considerații asupra reacției de culoare. Am făcut cîteva încercări pentru a găsi gruparea chimică implicată în reacția de culoare. Dată fiind specificitatea reacției nu ar fi exclus ca aceiași grupare să fie legată și de activitatea antibiotică a acidului penicilic. În special ne-am îndreptat atenția asupra grupării carbonilice pe care o prezintă forma ceto - acidă a substanței.

Am încercat să vedem dacă o dioximă care rezultă prin demetilarea și decarboxilarea acidului penicilic nu ar fi colorată în mediu alcalin. Această dioximă (IV) a fost preparată după metoda descrisă [1]. În soluție alcoolică sau apoasă alcalină, dioxima (IV) nu se colorează.



(IV)

Compusul colorat nu este extras de către solvenții organici comuni. Prin acidulare, culoarea roșie dispare fără a putea fi restabilită prin alcalinizare.

Spectrul de absorbție în ultraviolet al soluției de acid penicilic pe care s-a efectuat reacția de culoare prezintă (fig. 2) două maxime la 370 mμ și 287 mμ și două minime la 340 mμ și 248 mμ.

Institutul de cercetări antibiotice, București.

Prezentat la redacție la 28 octombrie 1955

МЕТОД КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕНИЦИЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ

(КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ)

Описывается новая цветная реакция для антибиотика пенициллоной кислоты. Эта реакция, которая, как было доказано, является специфической и чувствительной, может быть применена для исследования антибиотического действия пенициллоной кислоты.

Закон Беера применим в области от 80 до 1000 μг и позволяет определение пенициллоной кислоты в фильтратах, содержащих концентрации свыше 100 μ г/мл, без предварительной экстракции или концентрации.

Цветная реакция вызывается пенициллоной и ацетилпенициллоной кислотами. Она не вызывается дибромпенициллоной кислотой и антибиотиками, обычно используемыми в клинике.

Диоксим, происходящий от декарбоксилирования и деметилирования пенициллоной кислоты, не окрашен.

Приводится спектр поглощения в ультрафиолетовых лучах окрашенного раствора.

MÉTHODE DE DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DE L'ACIDE PÉNICILLIQUE

(RÉSUMÉ)

L'auteur indique une nouvelle réaction de couleur pour l'antibiotique qu'est l'acide pénicillique. Cette réaction, qui s'avère spécifique et sensible, peut être appliquée à l'étude de l'activité antibiotique de l'acide pénicillique.

La loi de Beer s'applique dans un domaine de 80—1 000 μg et permet le dosage de l'acide pénicillique dans les produits de filtration natifs à concentrations de plus de 100 μg/ml, sans extraction ou concentration préalable.

La réaction colorée est fournie par les acides pénicillique et acétylpénicillique. Elle ne l'est pas par l'acide dibromopénicillique ni par les antibiotiques habituellement utilisés en clinique.

Une dioxime résultant de la décarboxylation et de la déméthylation de l'acide pénicillique n'est pas colorée.

On donne le spectre d'absorption dans l'ultra-violet de la solution colorée.

BIBLIOGRAFIE

1. J. H. BIRCKINSHAW, A. E. OXFORD, H. RAISTRICK, *The Biochemistry of microorganisms. XLVIII Penicillic acid, a metabolic product of P. Puberulum Bainier and P. Cyclopium. Westling*, Biochem. Journ., **30**, 394—411 (1936).
2. W. GEIGER, J. CONN, *The mechanism of the antibiotic action of Clavacin and Penicillic acid*. J. Am. Chem. Soc., **1**, 112 (1945).
3. G. GORBACH, W. FRIEGRICH, *Beiträge zur Kentniss der Penicillsäure*. Ost. Chem. Zeitg., p. 93 (1949).
4. I. GRECEANU, C. GHERONDACHE, *Suşa G 400 de Penicillium Chrysogenum*. Ed. Acad. R.P.R., Bucureşti, 1951.
5. A. E. OXFORD, *On the chemical reactions occuring between certain substances which inhibit bacterial growth and the constituents of bacteriological media*. Biochem. J., **36**, 438 (1942).
6. A. E. OXFORD, H. RAISTRICK, G. SMITH, *Antibacterial substances from moulds*. Chem. Abstr., (1942), 2287[9].
7. M. M. SEMIACHIN, A. S. HOHLOV, *Himia antibioticeschih vescestv*. Moscova, 1953, ed. II, 171.

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE CHIMIE

Tomul IV 1956

INDEX ALFABETIC

	Nr.	Pag.
BALOGH LADISLAU, Schimbările proprietăţilor coloidale ale solurilor de lecitină sub acţiunea oxigenului	3–4	183
BODEA C. şi MOLDOVAN A., Asupra acţiunii carotinoidelor în procese de autoxidare şi polimerizare. Nota V. Autoxidarea şi polimerizarea disacrilică a acroleinei în prezenţă de α-şi β-carotină	3–4	161
BODEA C., FLORESCU M., şi GROSS J., Asupra acţiunii carotinoidelor în procese de autoxidare şi polimerizare. Nota VI. Funcţionarea xantofilei licopinei şi a crocetinei ca acceptori de oxigen peroxidic	3–4	167
CIUHANDU GHEORGHE, Un reactiv pentru urmărirea oxidului de carbon în aer. Combinaţia de argint a acidului *p*-sulfonamido-benzoic	3–4	189
CONSTANTINESCU D. GR. şi CALCANDI V. EM., O nouă metodă de dozare fotometrică a flavonolilor şi 3-glicozizilor lor	1–2	99
COSTESCU DAN C. şi SZEKELY GUSTAV, O nouă metodă de laborator pentru prepararea butadienei prin cracarea ciclohexanului	3–4	
DUCA A., Metode polarografice pentru determinarea raportului dintre alcaline (Na/K), fără separare chimică prealabilă	3–4	131
EPERJESSY ANA şi KISS ÁRPÁD, Contribuţii privind biochimia lipoproteidelor	3–4	279
GHEORGHIU C. V., STOICESCU-CRIVETZ LEONIA şi MĂNDĂŞESCU LAURA, Acţiunea antituberculoasă a acizilor *p*-amino-*o*-halogeno-benzhidroxamici	1–2	39
GHEORGHIU C. V., BUDEANU C. H., BUDEANU ELENA şi TOMA A., Acţiunea antituberculoasă a unor tiourei noi, derivate din sulfamide (V) şi acizi aminici aromatici (II)	1–2	47
IONESCU MARIA şi FĂRCĂŞAN MARCELA, Acţiunea alcoolaţilor asupra nitroderivaţilor aromatici halogenaţi (I) (Acţiunea hidroxizilor alcalini metilalcoolici şi a metilatului de sodiu asupra *p*-nitro-clorbenzenului)	1–2	69
KÉKEDY L. şi HAJDU E., Contribuţii la dozarea polarografică a vitaminei K_3	3–4	145
MACOVSCHI EUGEN şi BOTOŞĂNEANU LILICA, Acţiunea lecitinei asupra pătrunderii novocainei prin membrana lichidă apă-alcool-*izo*-amilic	1–2	31
MACOVSCHI EUGEN şi COMOROŞAN SORIN, Cercetări conductometrice asupra exosmozei electroliţilor din piele – Notă preliminară –	3–4	271
MINŢER I. şi GHERGHEL F., Prepararea unor ω-hidroxi-acetofenone printr-o reacţie de hidroxi-acetilare a fenolilor cu glicolo-nitril	1–2	111
NENIŢESCU COSTIN D., AVRAM MARGARETA şi ŞLIAM ELVIRA, Despre reducerea 5-nitro-uracilului cu ditionit de sodiu	1–2	15
NENIŢESCU COSTIN D. şi AVRAM MARGARETA, Sinteza amfi-fluorochinonei	1–2	57
NENIŢESCU COSTIN D. şi ŢIŢEICA ŞERBAN, Despre o relaţie între punctele de topire şi numărul de atomi de carbon în seria parafinelor normale superioare	1–2	65
NENIŢESCU COSTIN D., ŢIŢEICA ŞERBAN şi IOAN VIORICA, Despre mecanismul reacţiilor de alchilare ale nucleului aromatic. Reacţii de alchilare ale benzenului, catalizate de acizi protonici	3–4	207
PETRAŞCU SEVER şi MIHUŢESCU MARGARETA, Sinteza şi studiul fizico-chimic al unor compuşi anion-activi	1–2	79
PETRAŞCU SEVER şi GROU ELVIRA, O metodă colorimetrică pentru determinarea dinitro-fenolilor	1–2	93
RIPAN R., MARCU GH. şi PASCU N., Găsirea produselor bogate în telur din industria neferoasă şi recuperarea telurului	1–2	7

	Nr.	Pag.
SORU E., BARBER C., TOMA S., GRITAENCO V. și BOGOKOWSKI B., Contribuții, la studiul vaccinurilor antitifo-paratifice din extracte microbiene. II. Studiul chimic comparativ al unor antigene somatice extrase din *S. Typhi*	3–4	243
SORU EUGENIA și ȘTERNBERG M., Studiul metabolismului oxidativ cu ajutorul clorurii de trifeniltetrazoliu la germenii anaerobi	3–4	263
SPACU G. și SCHERZER J., O nouă metodă de determinare colorimetrică a cuprului	3–4	219
STOICESCU-CRIVETZ L. și MĂNDĂȘESCU L., Acțiunea antituberculoasă a unor hidrazide și hidrazone derivate din acizii *p*-amino-*o*-halogeno-benzoici	3–4	175
ȘTERNBERG M., O metodă de dozare colorimetrică a acidului penicilic	3–4	
TĂNĂSESCU I., GANEA I., HODOȘAN F. și TERDIC M., Despre steroide, VII. Esteri nitrici în clasa acizilor biliari	1–2	21
TĂNĂSESCU I., HODOȘAN F. și JUDE I., Despre steroide. (VIII) Contribuții la sinteza acetatului dezoxicorticosteronei	3–4	201
TĂNĂSESCU I. și FRENKEL Z., Despre acridone (XV). Condensarea 2,4-dinitro-benzaldehidei cu clor- și brom-benzen	3–4	227
VLĂDESCU RADU, Aparat simplu permițînd determinarea viscozității și a tensiunii superficiale relative a lichidelor biologice	3–4	235
VLĂDESCU RADU și CIOCOIU ANGELA, Tensioviscozimetrul aplicat la controlul laptelui	3–4	239

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ХИМИИ

Том IV 1956

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

	№	Стр.
БАЛОГ Л., Изменения коллоидных свойств золей лецитина под действием кислорода	3—4	183
БОДЯ К. и МОЛДОВАН А., О действии каротиноидов в процессах самоокисления и полимеризации. Сообщение V. Дисакриловое самоокисление и полимеризация акролеина в присутствии каротинов α и β	3—4	161
БОДЯ К., ФЛОРЕСКУ М. и ГРОСС Ж., О действии каротиноидов в процессах самоокисления и полимеризации. Сообщение VI. Действие ксантофила, ликопина и кроцетина в качестве воспринимателей перекисного кислорода	3—4	167
ВЛЭДЕСКУ Р., Простой прибор, позволяющий определять вязкость и относительное поверхностное натяжение биологических жидкостей	3—4	189
ВЛЭДЕСКУ Р. и ЧОКОЮ А., Применение тенсиовискозиметра для проверки качества молока	3—4	239
ГЕОРГИУ К. В., СТОИЧЕСКУ-КРИВЕЦ Л. и МЭНДЭШЕСКУ Л., Противотуберкулезное действие *p*-амино-*o*-галоидбензгидроксаминокислот	1—2	39
ГЕОРГИУ К. В., БУДЯНУ К. Х., БУДЯНУ Е. и ТОМА А., Противотуберкулезное действие некоторых новых тиомочевин, производных сульфамидов (V) и аминовых ароматических кислот (II)	1—2	47
ДУКА А., Полярографические методы для определения соотношения щелочей (Na/K) без предварительного химического разделения	3—4	131
ИОНЕСКУ М. и ФЭРКЭШАН М., Действие алкоголятов на галоидные ароматические нитропроизводные. I. Действие метилспиртовых щелочных гидроокисей и метилата натрия на *p*-нитрохлорбензол	1—2	69
КЕКЕДИ Л. и ХАЖДУ Е., К вопросу о полярографическом определении витамина K_3	3—4	145
КОНСТАНТИНЕСКУ Д. Г. и КАЛКАНДИ В. Э., Новый метод фотометрического определения флавонолов	1—2	99
КОСТЕСКУ Д. К. и СЕКЕЛИ Г., Новый лабораторный метод приготовления бутадиена путем крекирования циклогексана	3—4	291
МАКОВСКИЙ Е. и БОТОШЭНЯНУ Л., Влияние лецитина на проникновение новокаина через образующуюся между водой и изоамиловым спиртом жидкую пленку	1—2	31
МАКОВСКИЙ Е. и КОМОРОШАН С., Кондуктометрические исследования экзосмоса электролитов кожи. Предварительное сообщение	3—4	271
МИНЦЕР И. и ГЕРГЕЛЬ Ф., Получение некоторых ω-гидроксиацетофенонов посредством реакции гидроксиацетилирования фенолов гликолонитрилом	1—2	411
НЕНИЦЕСКУ К. Д., АВРАМ М. и ШЛИАМ Э., О восстановлении натриевым дитионитом 5-нитроурацила	1—2	15
НЕНИЦЕСКУ К. Д. и АВРАМ М., Синтез амфифлуорохинона	1—2	57
НЕНИЦЕСКУ К. Д. и ЦИЦЕЙКА Ш., О связи между точками плавления и числом атомов углерода в ряде высших нормальных парафинов	1—2	65
НЕНИЦЕСКУ К. Д., ЦИЦЕЙКА Ш. и ИОАН В., О механизме реакций алкилирования ароматического ядра. Реакции алкилирования бензола в присутствии протоновых кислот в качестве катализаторов	3—4	207
ПЕТРАШКУ С. и МИХУЦЕСКУ М., Синтез и физико-химическое исследование некоторых соединений с активными анионами	1—2	79
ПЕТРАШКУ С. и ГРОУ Э., Колориметрический метод для определения динитрофенолов	1—2	93

	№	Стр.
РИПАН Р., МАРКУ Г. и ПАСКУ Н., Получение в цветной металлургии богатых теллуром продуктов и рекуперация теллура	1—2	7
СОРУ Е., БАРБЕР К., ТОМА С., ГРИЦАЕНКО В. и БОГОКОВСКАЯ Б., К вопросу о брюшнотифозных тривакцинах из микробных экстрактов. II. Сравнительное химическое исследование некоторых соматических антигенов, выделенных из *S. Typhi*	3—4	243
СОРУ Е. и ШТЕРНБЕРГ М., Исследование окислительного обмена веществ при помощи хлорида трифенилтетразола у анакробных бактерий	3—4	63
СПАКУ Г. и ШЕРЦЕР Ж., Новый метод колориметрического определения меди	3—4	19
СТОИЧЕСКУ-КРИВЕЦ Л. и МЭНДЭШЕСКУ Л,. Противотуберкулезное действие некоторых гидразидов и гидразонов, производных *p*-амино-*o*-галоидбензойных кислот	3—4	175
ТЭНЭСЕСКУ И., ГАНЯ И., ХОДОШАН Ф. и ТЕРДИК М., О стероидах. VII. Азотные эфиры в классе желчных кислот	1—2	21
ТЭНЭСЕСКУ И., ХОДОШАН Ф. и ЖУДЕ И., О стероидах. VIII. К вопросу о синтезе уксуснокислого дезоксикортикостерона	3—4	201
ТЭНЭСЕСКУ И. и ФРЕНКЕЛЬ З., Об акридонах (XV). Конденсация 2,4-динитробензальдегида с хлор- и бромбензолом	3—4	227
ЧУХАНДУ Г., Реактив для выявления окиси углерода в воздухе — серебряное соединение *p*-сульфонамидобензойной кислоты	3—4	189
ШТЕРНБЕРГ М., Метод колориметрического определения пенициллиевой кислоты	3—4	315
ЭПЕРИЕШИ А. и КИСС А., К вопросу об исследовании биохимии липопротеидов	3—4	279

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE CHIMIE

Tome IV 1956

INDEX ALPHABÉTIQUE

	N°	Page
BALOGH LADISLAU, Le changement de propriétés colloïdales des sols de lécithine sous l'action de l'oxygène	3–4	183
BODEA C. et MOLDOVAN A., L'action des carotinoïdes dans les processus d'auto-oxydation et de polymérisation. Note V. L'auto-oxydation et la polymérisation disacrylique de l'acroléine en présence de la carotine α ou β	3–4	161
BODEA C., FLORESCU M. et GROSS J., L'action des carotinoïdes dans les processus d'auto-oxydation et de polymérisation. Note VI. Le fonctionnement de la xanthophile, de la lycopène et de la crocétine comme accepteurs d'oxygène peroxydique	3–4	167
CIUHANDU GHEORGHE, Un réactif qui permet de déceler l'oxyde de carbone dans l'air. La combinaison d'argent de l'acide *p*-sulfonamido-benzoïque	3–4	189
CONSTANTINESCU D. GR. et CALCANDI V. EM., Une nouvelle méthode de dosage photométrique des flavonols et de leurs 3-glycosides	1–2	99
COSTESCU DAN C. et SZÉKELY GUSTAV, Une nouvelle méthode de laboratoire pour la préparation du butadiène par craking du cyclohexane	3–4	299
DUCA A., Méthodes polarographiques pour la détermination du rapport entre les métaux alcalins $\frac{1}{2}$(Na/K) sans séparation chimique préalable	3–4	131
EPERJESSY ANA et KISS ÁRPÁD, Contributions à l'étude de la biochimie des lipoprotéides	3–4	279
GHEORGHIU C. V., STOICESCU-CRIVETZ LEONIA et MĂNDĂȘESCU LAURA, L'action antituberculeuse des acides *p*-amino-*o*-halogénobenzhy-droxamiques	1–2	39
GHEORGHIU C. V., BUDEANU C. H., BUDEANU ELENA et TOMA A., Action antituberculeuse de quelques thio-urées nouvelles, dérivées des sulfamides (V) et des acides aminiques aromatiques (II)	1–2	47
IONESCU MARIA et FĂRCĂȘAN MARCELA, L'action des alcoolates sur les nitrodérivés aromatiques halogénés (I). (Action des hydroxydes alcalins méthylalcooliques et du méthylate de sodium sur le *p*-nitrochlorobenzène)	1–2	69
KÉKEDY L. et HAJDU E., Contributions au dosage polarographique de la vitamine K_3	3–4	145
MACOVSCHI EUGEN et BOTOȘĂNEANU LILICA, Influence de la lécithine sur la pénétration de la novocaïne à travers la membrane liquide eau-alcool *iso*-amylique	1–2	31
MACOVSCHI EUGEN et COMOROȘAN SORIN, Recherches conductométriques relatives à l'exosmose des électrolytes de la peau. Note préliminaire	3–4	271
MINȚER I. et GHERGHEL F., Préparation de quelques ω-hydroxy-acétophénones au moyen d'une réaction d'hydroxy-acétylation des phénols au glycolonitrile	1–2	111
NENIȚESCU COSTIN D., AVRAM MARGARETA et ȘLIAM ELVIRA, La réduction du 5-nitro-uracile par le dithionite de sodium	1–2	15
NENIȚESCU COSTIN D. et AVRAM MARGARETA, Synthèse de l'amphifluoroquinone	1–2	57
NENIȚESCU COSTIN D. et ȚIȚEICA ȘERBAN, D'une relation entre le point de fusion et le nombre d'atomes de carbone dans la série des paraffines normales supérieures	1–2	65
NENIȚESCU COSTIN D., ȚIȚEICA ȘERBAN et IOAN VIORICA, Sur le mécanisme des réactions d'alcoylation du noyau aromatique. Réactions d'alcoylation du benzène catalysées par des acides protoniques	3–4	207
PETRAȘCU SEVER et MIHUȚESCU MARGARETA, Synthèse et étude physico-chimique de certains composés tensio-actifs anioniques	1–2	79
PETRAȘCU SEVER et GROU ELVIRA, Une méthode colorimétrique pour la détermination des dinitrophénols	1–2	93

	N°	Page
RIPAN R., MARCU GH. et PASCU N., Découverte de produits riches en tellure de l'industrie des métaux non ferreux et récupération du tellure	1–2	7
SORU E., BARBER C., TOMA S., GRITAENCO V. et BOGOKOWSKI B., Contributions à l'étude des vaccins antityphо-paratyphiques. II. Etude chimique comparative des gutigènes somatiques extraits du *S. Typhi*	3–4	243
SORU EUGENIA et STERNBERG M., L'étude du métabolisme oxydatif à l'aide du chlorure de triphényltétrazolium chez les germes anaérobes	3–4	263
SPACU G. et SCHERZER J., Une nouvelle méthode de détermination colorimétrique du cuivre	3–4	219
STOICESCU-CRIVETZ L. et MĂNDĂȘESCU L., L'action antituberculeuse de quelques hydrazides et hydrazones dérivées des acides *p*-amino-*o*-halo- génobenzoïques	3–4	175
STERNBERG M., Méthode de dosage colorimétrique de l'acide pénicillique	3–4	315
TĂNĂSESCU I., GANEA I., HODOȘAN F. et TERDIC M., Sur les stéroïdes. VII. Esters nitriques de la classe des acides biliaires	1–2	21
TĂNĂSESCU I., HODOȘAN F. et JUDE I., Sur les stéroïdes. (VIII). Contributions à la synthèse de l'acétate de la désoxycorticostérone	3–4	201
TĂNĂSESCU I. et FRENKEL Z., Sur les acridones.(XV). Condensation de la dinitro-2,4 benzaldéhyde avec le chloro et le bromo-benzène	3–4	227
VLĂDESCU RADU, Appareil simple pour déterminer la viscosité et la tension superficielle relative des liquides biologiques	3–4	235
VLĂDESCU RADU et CIOCOIU ANGELA, Application du tensioviscosimètre au contrôle du lait	3–4	239

ABONAMENTELE SE FAC LA OFICIILE POŞTALE,
PRIN FACTORII POŞTALI ŞI DIFUZORII VOLUNTARI
DIN ÎNTREPRINDERI Şi INSTITUŢII

U. 2=12.

ÎNTREPRINDEREA
POLIGRAFICĂ nr. 3
BUCUREȘTI

LEI 5,—